Die Oogenese der Tipuliden

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Vorgelegt von
Klaus Bayreuther aus Leer, Ostfriesland

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Würzburg 1955

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Eingereicht am 5. Oktober 1954
1. Berichterstatter Prof. Dr. H. Autrum
2. Berichterstatter Prof. Dr. H. Bauer
Tag der mündlichen Prüfung: 24. Mai 1955

Chromosoma, Bd. 7, S. 508—557 (1956)

Aus dem Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Abteilung H. Bauer, Wilhelmshaven, und dem Zoologischen Institut der Universität Würzburg (Direktor: Prof. Dr. H. Autrum)

DIE OOGENESE DER TIPULIDEN*

Von

Klaus Bayreuther**

Mit 25 Textabbildungen

(Eingegangen am 31. August 1955)

* Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Würzburg.

** Mit Unterstützung der Studienstiftung des Deutschen Volkes.

Inhaltsübersicht

Seite

A. Einleitung 509
B. Material und Methoden 509
C. Oogonienteilungen und Nukleinkörper 510
I. Allgemeines 510
II. Entstehung und Verteilung der Nukleinkörper in den sekundären Oogonien 512
a) Arten mit konstant 2 NK-Zellen 512
1. *Tipula lateralis* (als ausführlich besprochenes Beispiel) 512
2. Weitere NK-Zellen-konstante Arten mit $n = 3 + X$ 515
3. NK-Zellen-konstante Arten ohne Geschlechtschromosomen . . 517
b) Sekundäre Nukleinkörper bei *Tipula oleracea* 519
c) Arten mit variabler Anzahl von NK-Zellen 521
D. Die Chromosomen und Nukleinkörper während der 1. und 2. Wachstumsperiode der Oocyten 522
E. Die Reifeteilungen im Ei 527
I. Allgemeines 527
II. Der Ablauf der Reifeteilungen und das Chromosomenverhalten . . . 528
a) Arten mit achiasmatischer Paarung der Geschlechtschromosomen (*Pales crocata* und *Pales pratensis*) 528
b) Arten ohne Paarung der Geschlechtschromosomen (*Tipula lateralis*, *Tipula oleracea*, *Tipula paludosa*) 533
c) Arten ohne Geschlechtschromosomen (*Tipula caesia*) 540
III. Die Formveränderungen der Spindel während der Reifeteilungen . . 543
a) Allgemeines 543
b) Die Spindelveränderungen der einzelnen Arten 543
F. Diskussion der Ergebnisse 547
I. Die Nukleinkörper 547
II. Die Meiose 551
a) Die Chromosomen 551
b) Die Spindel 553
Zusammenfassung 554
Literatur 556

A. Einleitung

Die Kenntnisse über das Verhalten der Chromosomen in der Meiose sind bei den Dipteren auf die Spermatogenese beschränkt. Unvollständige Darstellungen der Reifeteilungen im Ei liegen nur für eine kleine Anzahl Arten vor. Diese wenigen Untersuchungen stammen teilweise aus Zeiten, als die Bedeutung der Chromosomen noch nicht bekannt war, so daß das Interesse der Autoren anderen Fragen galt. Andererseits sind sie an genetisch bekannten Objekten *(Drosophila)* ausgeführt worden, um die Parallelität zwischen genetischem Faktorenaustausch und dem Auftreten von Chiasmen aufzuzeigen, doch sind diese Species wegen der geringen Größe ihrer Chromosomen für eine genauere cytologische Analyse ungeeignet.

Daher erschien eine cytologische Untersuchung der Oogenese bei den Dipteren wünschenswert, die an einigen Arten der Familie Tipulidae ausgeführt wurde. Diese sind wegen der Größe der Chromosomen dafür geeignet und zum Vergleich liegen für sie ausführliche Untersuchungen der Spermatogenese vor (Bauer 1931, 1956).

Danach gehört die Meiose im ♂♂ verschiedenen Typen an; Arten mit chiasmatischer und achiasmatischer Meiose treten nebeneinander auf, so daß außer einer allgemeinen Beschreibung der Chromosomenverhältnisse in den Reifeteilungen der Oocyten die Klärung der Frage nach dem Paarungsmodus der Chromosomen in der ♀♀-Meiose wichtig war.

Im Laufe der Untersuchungen wurden in den Teilungen der sekundären Oogonien extrachromosomale feulgenpositive Körper gefunden. Ihr Aufbau und Zerfall wird als morphologische Grundlage für zukünftige cytochemische Untersuchungen über den Stoffwechsel der extrachromosomalen Desoxyribosenukleinsäure beschrieben. Die Schwankungen der DNS-Menge in den diploiden Oogonien, die mit der Synthese und dem Abbau der extrachromosomalen feulgenpositiven Körper einhergehen, werden unter dem Gesichtspunkt der DNS-Mengenkonstanz in Zellen gleichen Ploidiegrades diskutiert.

Die vorliegende Arbeit wurde am Max-Planck-Institut für Meeresbiologie in Wilhelmshaven ausgeführt. Für die Anregung zu dieser Arbeit und vielseitige Förderung danke ich herzlich Herrn Prof. Dr. H. Bauer, für das stete Interesse am Fortgang der Arbeit Herrn Prof. Dr. H. Autrum.

B. Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden an folgenden Arten der Familie *Tipulidae*, Unterfamilie *Tipulinae*, vorgenommen[1]:

1. *Pales crocata* L.
2. *Pales pratensis* L.
3. *Pales scurra* Meig.
4. *Pales quadristriata* Schumm.
5. *Tipula (Tipula) paludosa* Meig. — *oleracea*-Gruppe
6. *Tipula (Tipula) oleracea* Meig. — *oleracea*-Gruppe
7. *Tipula (Tipula) pruinosa* Wiedem. — *pruinosa*-Gruppe
8. *Tipula (Tipula) caesia* Schumm. — *pruinosa*-Gruppe
9. *Tipula (Tipula) marginata* Meig. — *pruinosa*-Gruppe
10. *Tipula (Yamatotipula) lateralis* Meig.

[1] Benennung nach Mannheims (1951, 1952).

Die Larven, Puppen und ♀♀-Imagines entstammen teilweise den Institutszuchten, teilweise wurden ♀♀ eingefangen. Von den mit Nr. 1, 6, 8, 10 bezifferten Arten wurden die Oogonienteilungen und Reifeteilungen im Ei, bei den mit Nr. 3, 4, 7, 9 bezeichneten Arten nur die Oogonienteilungen, bei Nr. 2, 5 nur die 1. Reifeteilung untersucht.

Die Teilungen der primären Oogonien laufen bei allen Arten am Ende des 3. Larvenstadiums ab, die der sekundären Oogonien sind im mittleren 4. Larvenstadium abgeschlossen. Die 1. Wachstumsphase, in der die Zellen der Eianlagen gleichmäßig größer werden, dauert bis zum Ende des 4. Larvenstadiums. Danach tritt eine der 16 Zellen des Einährzellverbandes, die definitive Oocyte, in die 2. Wachstumsperiode ein, die nach starker Vergrößerung und Dotterbildung mit der Ausbildung des Chorions am vorletzten Puppentag beendet ist. Das Chorion ist sehr dick — z. B. bei *Tipula caesia* 12 μ — und bei einigen Arten im Augenblick des Schlüpfens der ♀♀-Imagines, bei anderen einen Tag danach, schwarz pigmentiert. Die Eier sind bei der Ablage — artspezifisch verschieden — 0,6—0,8 mm lang und 0,2—0,3 mm breit.

Die herauspräparierten Gonaden der Larven des 3. und 4. Stadiums wurden meistens mit Alkohol-Eisessig (AE) 3:1 fixiert und in Karminessigsäure (KE) gefärbt, kurz in 45% Essigsäure differenziert und in Euparal überführt. Zur Verdeutlichung schlecht färbbarer Strukturen wurden die Gonaden in KE vorgefärbt und in Orcein-Essigsäure-Milchsäure (OEM) gequetscht. Zur Klärung der Lagebeziehungen der Zellen waren Schnittpräparate notwendig. Gonaden von Larven und Puppen wurden in Bouin-Allen fixiert und 8—10 μ dick geschnitten und mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain und nach der Feulgen-Methode gefärbt.

Die reifen ♀♀-Imagines von *Tipula lateralis*, *T. oleracea* und *T. paludosa* können durch Dekapitation zur beschleunigten Eiablage gebracht werden. Während die Ablage dieser Arten normalerweise mehrere Stunden dauert, legen die dekapitierten Tiere in 20—30 min ab. Dieses Verfahren versagte bei *Pales crocata*, *P. pratensis* und *Tipula caesia*. Dekapitierte Imagines dieser Arten sterben nach Ablage einiger Eier innerhalb kurzer Zeit. Hier kann die Eiablage in nassen Zellstoff durch leichtes Drücken des Abdomens mit der Pinzette ausgelöst und beschleunigt werden. Um den Ablauf der Meiose zu verfolgen, wurden die in einem Zeitintervall von 5 min abgelegten Eier gesammelt und jeweils 5, 10, 15, . . . min nach der Ablage fixiert. Unter einer großen Anzahl Fixiermittel, die ausprobiert wurden, erwies sich nur Bouin-Allen als geeignet. Die Eier wurden ohne Anstich 10 min in 60° warmem und 36 Std in normal temperiertem Bouin-Allen fixiert; danach wurde das Chorion nach dem von SLIFER (1945) angegebenen Verfahren entfernt[1]. Dafür wurden die Eier aus dem Fixiergemisch in eine frische Natriumhypochloritlösung mit ungefähr 4% aktivem Chlor (E. Merck, Darmstadt) übertragen, durch dessen oxydierende Wirkung das Chorion gleichmäßig dünner wird. Nach 10—20 min schimmern die durch die Fixierflüssigkeit gelb gefärbten Dotterschollen an den Längsseiten des Eies durch, während die beiden stärker chitinisierten Eipole noch dunkelbraune Färbung haben. Auf diesem Stadium wird die Behandlung durch Übertragen der Eier in 70% Alkohol unterbrochen, worin sie für 2 Std gelassen werden. Die Einbettung erfolgt über Butylalkohol und Benzol in Paraffin. Es wurden nur Querschnitte angefertigt, die Schnittdicke betrug 12 μ. Gefärbt wurde mit der Feulgen-Methode; Hydrolysedauer 22 min.

C. Oogonienteilungen und Nukleinkörper

I. Allgemeines

Ausführliche Beschreibungen der Oogonienteilungen und der Eibildung sind für *Tipula paludosa* vorhanden (BAUER 1931, 1932, 1933), mit

[1] Für den Hinweis auf diese Methode danke ich Herrn Prof. Dr. B. GLASS.

denen die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen an weiteren Arten der Familie *Tipulidae* weitgehend übereinstimmen. Doch sind auch Unterschiede bei den verschiedenen Arten vorhanden; z.B. im Aufbau der Interphasekerne. Daneben sind die einzelnen Arten vor allen Dingen durch Besonderheiten im Verhalten und Aufbau extrachromosomaler feulgenpositiver Körper während der Teilungen der sekundären Oogonien charakterisiert. Diese Körper geben normale Feulgen-Reaktion, unabhängig von der Art der Fixierung, nach jeweils optimaler Hydrolysedauer. Sie enthalten also Desoxyribosenukleinsäure. *Derartige extrachromosomale feulgenpositive Körper werden kurz Nukleinkörper* (NK) *genannt* (Bayreuther 1952).

Die NK treten bei allen Arten — außer *Tipula oleracea* und *Pales crocata*, bei denen sie bereits in der 1. Teilung der sekundären Oogonien vereinzelt zu finden sind — zum 1. Mal in der Prophase des 2. Teilungsschrittes der sekundären Oogonien, jeweils in beiden Schwesterzellen, auf. Sie werden in den folgenden 3 Teilungsschritten immer nur in einen der beiden Tochterkerne einbezogen und in doppelter Linie an 2 der 16 Zellen einer Eianlage weitergegeben (Bayreuther 1952, Bauer 1953). Tabelle 1 gibt für 7 Arten die Anzahl der ausgewerteten

Tabelle 1. *Ausgewertete Mitosen und Ovarien bei den Arten mit konstant 2 NK-Zellen*

Arten	Differentialmitose			Gesamtzahl der analysierten Differentialmitosen	Zahl der ausgewerteten Ovarien	Abweichungen von der Zahlenkonstanz
	2.	3.	4.			
T. lateralis	33	21	27	81	54	0
T. marginata	8	13	11	32	26	0
P. quadristriata . .	7	9	13	29	24	0
P. scurra	4	12	7	23	17	0
T. caesia	12	14	18	44	18	0
T. pruinosa	5	7	14	26	13	0
T. oleracea	11	13	16	40	24	0

Gruppenmitosen der einzelnen Teilungsschritte, weiterhin die Gesamtzahl der analysierten Gruppenmitosen und die Anzahl der ausgewerteten Ovarien wieder.

Danach sind im 2., 3. und 4. Teilungsschritt bei allen 7 Arten ausnahmslos 2 Zellen mit NK vorhanden, so daß die Species unter diesem Gesichtspunkt zu einer Gruppe zusammengefaßt werden können (Arten mit konstant 2 NK-Zellen).

Bei einer weiteren Art, *Pales crocata*, ist die Zahl der NK-bildenden Zellen nicht streng determiniert, so daß schließlich NK in 1—4 Zellen der 16zelligen Eianlagen gelangen (Arten mit variabler Anzahl von NK-Zellen). Hierher gehört vielleicht auch *Tipula paludosa*.

II. Entstehung und Verteilung der Nukleinkörper in den sekundären Oogonien

a) Arten mit konstant 2 NK-Zellen

1. Tipula lateralis (als ausführlich besprochenes Beispiel). Diese Art hat einen Chromosomenbestand von $n = 3 + X(Y)$ (Abb. 1e). Die drei Autosomen haben ungefähr gleiche Länge und mediane Kinetochoren.

Abb. 1a—e. *Tipula lateralis*. Nukleinkörperaufbau. a Späte Interphase (Schollenstadium) vor dem 2. Teilungsschritt, Aufbau der Nukleinkörper an den Enden der entspiralisierten Heterosomen. b Prophase des 2. Teilungsschrittes, Geschlechtschromosomen haben nur noch terminale Bindung an den Nukleinkörper. c Späte Interphase vor dem 3. Teilungsschritt, 2 Heterosomenpaare mit, 2 ohne Nukleinkörper. d Heterosomen mit und ohne Nukleinkörper aus c herausgezeichnet. e Metaphase des 2. Teilungsschrittes mit Nukleinkörper, X_1 und X_2 Geschlechtschromosomen. a Schnitt, Heidenhain. b, c, d, e KE, OEM. a Vergr. 2300. b, e Vergr. 2500. c Vergr. 1200. d Vergr. 3000

Das submediokinetische X-Chromosom ist das längste Element des Chromosomensatzes, seine Schenkellängen stehen ungefähr im Verhältnis 1:2. Die Geschlechtschromosomen sind total heterochromatisch.

Die 1. Teilung der sekundären Oogonien verläuft ohne Besonderheiten. In den beiden Ruhekernen bilden die Chromosomen zunächst ein typisches reticuläres Interphasestadium (1. Interphasestadium, Abb. 2f) und gehen danach in das längerwährende Schollenstadium

(2. Interphasestadium, Abb. 2g, h) über. Im Schollenstadium enthält jede sekundäre Oogonie 3 hantelförmige und eine unregelmäßig gestaltete Chromatinscholle (Abb. 2g, h).

In der Prophase des 2. Teilungsschrittes differenzieren sich aus diesen unregelmäßig gestalteten Schollen die beiden Geschlechtschromosomen als lange spiralig gewundene Fäden heraus (Abb. 2h), die einander an einem Ende regelmäßig stark genähert sind. Dieses Ende der X-Chromosomen ist dadurch charakterisiert, daß es einen kurzen, auffallend dünnen Terminalabschnitt besitzt. An diesen dünnen Terminalabschnitten tritt im weiteren Verlauf der frühen Prophase ein kleiner runder Körper feulgenpositiven Materials auf, der sich schnell vergrößert und dabei von den locker spiralisierten Geschlechtschromosomen umwunden wird. Die Umschlingung ist in der Regel nur partiell, so daß dem feulgenpositiven Körper (NK) peripher 2 Chromosomenenden von wechselnder Länge anhaften (Abb. 1a). Mit zunehmender Größe wird an dem NK zunächst eine Randzone von stärkerer Feulgen-Reaktion erkennbar; danach erscheinen im zentralen Teil feulgenpositive Granula wechselnder Zahl und Größe, die schließlich zu einem Netzwerk feulgenpositiver Stränge zusammentreten. Nach diesem Differenzierungsprozeß geben die zwischen der Randzone und dem Netzwerk verbliebenen Vakuolen keine merkliche Feulgen-Reaktion mehr. Nach vollzogenem Aufbau des NK lösen sich die Geschlechtschromosomen bis auf terminalen Kontakt von ihm ab (Abb. 1b). Nun treten auch in den 3 Autosomenschollen Chromatinfäden hervor, deren Doppelnatur bald sichtbar wird. In der späten Prophase haben sich die Homologen ganz aus den Schollen herausdifferenziert und sind nur noch an terminalen Abschnitten gepaart (Abb. 1b); ihre Paarung ist in der Prometaphase vollständig gelöst.

In der Metaphase liegen die runden bis elliptischen NK in den beiden Zellen am Plattenrand, meist in Berührung mit dem langen Schenkel eines oder beider Geschlechtschromosomen (Abb. 3a).

Nach der Trennung der Chromatiden in der Anaphase haben sich in der Regel die Tochterhälften der X-Chromosomen einer der beiden Anaphasegruppen von dem NK gelöst (Abb. 2a). Von den anaphasischen Geschlechtschromosomen am anderen Pol wird er dann tropfenförmig ausgezogen, ohne zunächst seine ursprüngliche Lage in der Äquatorialebene aufzugeben (Abb. 2a). Ausnahmsweise kann der NK auch zwischen beiden Tochtergruppen ausgespannt werden (Abb. 2b); es wurden aber niemals Bilder gefunden, die auf eine Zweiteilung des NK in solchen Ausnahmefällen hindeuten, so daß es auch hier wohl schließlich zu einer Trennung von einer der beiden Anaphasehälften kommt. Hierfür spricht Abb. 2c, wo sich der NK gerade von der oberen Anaphasegruppe gelöst hat. Erst in der späten Anaphase ist eine unter Kontraktion ablaufende Verschiebung des NK zum Pol hin zu bemerken,

und in der Telophase liegen dann die NK regelmäßig einer Telophasegruppe in von Fall zu Fall wechselnder Anordnung dicht an (Abb. 2e). Die spätanaphasische Polwanderung der NK kann in seltenen Fällen auch ganz ohne Kontakt mit den X-Chromosomen stattfinden (Abb. 2d). Stets finden die Bewegungen der NK nur in den peripheren Spindel-

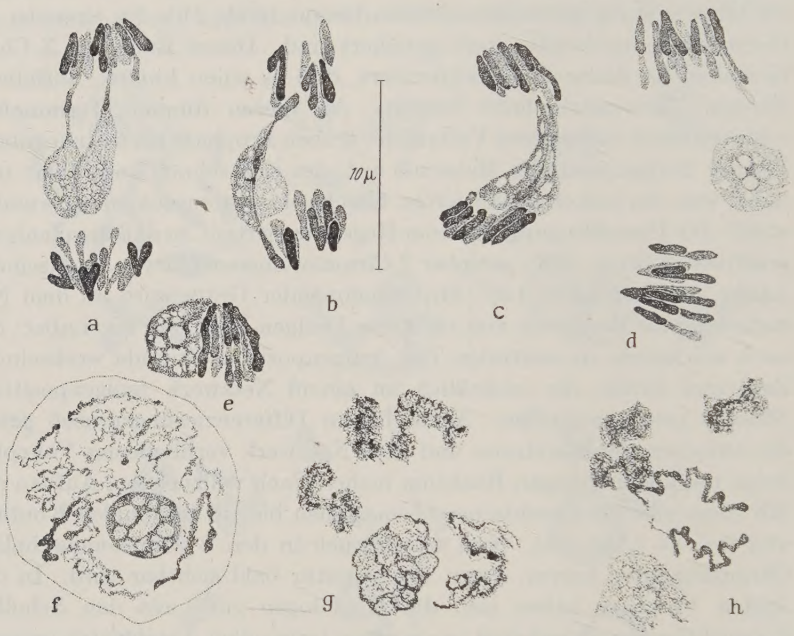

Abb. 2a—h. *Tipula lateralis*. Anaphasebewegung und Nukleinkörperabbau. a Nukleinkörper wandert in Verbindung mit den langen Schenkeln der Heterosomen. b Verspätetes Trennen des langen Schenkels eines Geschlechtschromosoms, der Nukleinkörper liegt dem langen Schenkel an und wird zwischen den beiden Anaphasehälften ausgespannt. c Nukleinkörper zwischen den beiden Anaphasegruppen ausgespannt. d Nukleinkörper ohne Kontakt mit den Chromosomen. e Telophasegruppe mit anliegendem Nukleinkörper. f Nukleinkörper im reticulären Interphasegerüst eingebettet, beginnende Vakuolisierung. g Maximale Vakuolisierung im frühen Schollenstadium, die Heterosomenscholle rechts neben dem Nukleinkörper. h Fortgeschrittener Abbau des Nukleinkörpers. KE, OEM. Vergr. 2500

regionen statt. Die Zellen mit und ohne NK haben gleiche Größe, die Plasmateilung ist also quantitativ äqual.

Die NK werden in die Ruhekerne einbezogen. Im reticulären Interphasestadium treten in den zunächst noch kugeligen NK große Vakuolen auf. Dabei sind die Randschicht und das die Vakuolen gegeneinander abgrenzende Gerüstwerk noch kräftig ausgeprägt (Abb. 2f). Erst zu Beginn des Schollenstadiums (2. Stadium der Interphase) schwellen die randständigen Vakuolen so stark an, daß die NK Traubenform annehmen (Abb. 2g). Hierbei wird auch das den NK durchziehende feulgenpositive Gerüstwerk und seine Rinde zunehmend dünner und blasser. Kurz

vor seiner vollständigen Auflösung enthält der jetzt ganz schwach und diffus gefärbte NK nur noch einige zentrale Vakuolen (Abb. 2h); die peripheren Vakuolen müssen in der Zwischenzeit also aufgeplatzt bzw. aufgelöst worden sein.

Kurz vor dem Verschwinden des alten NK beginnen sich aus den unvollständig umgeformten Kernschollen der 4 Kerne die prophasisch spiralisierten, ungepaarten X-Chromosomen herauszudifferenzieren (Abb. 2h), an ihren dünnen Enden (s. oben) treten, nachdem die alten NK völlig abgebaut sind, in 2 Zellen neue NK auf. Die Frage, ob die NK in denjenigen Interphasekernen neu aufgebaut werden, in die die NK der vorherigen Gruppenmitose aufgenommen wurden, kann also nicht direkt entschieden werden, sie wird in der Diskussion eingehend behandelt werden[1]. Wie in der Prophase des 2. Teilungsschrittes umschlingen die X-Chromosomen wieder den heranwachsenden neuen NK, um sich nach seinem Aufbau bis auf terminale Bindungen von ihm zu lösen. In den beiden NK-freien Prophasekernen des 3. Teilungsschrittes bilden die X-Chromosomen zu dem Zeitpunkt, wo die Geschlechtschromosomen in den NK-Zellen die heranwachsenden NK umschlingen, ein dichtes Knäuel, dem ein kleiner Nukleolus anliegt; auch der weitere Formwechsel der X-Chromosomen in den nicht NK-haltigen Kernen verläuft synchron mit ihren prophasischen Veränderungen in den NK-Zellen (Abb. 1c, d).

In der Metaphase des 3. Teilungsschrittes enthalten 2 der 4 Platten, in der Anaphase 2 der 8 Anaphasegruppen je einen NK (Abb. 3c). Für ihren Abbau und für den Aufbau der neuen NK des 4. Teilungsschrittes gelten die bereits besprochenen Gesetzmäßigkeiten. Nach Ablauf der 4 Teilungsschritte liegt dann ein Verband aus 16 Zellen vor, von denen 2 einen NK zugeteilt bekommen haben (Abb. 3d).

Die beiden Spindeln, in denen die NK des 2., 3. und 4. Teilungsschrittes auftreten, sind stets benachbart (Abb. 3c, d), und ihre Längsachsen laufen mehr oder weniger parallel zueinander (Abb. 3b, c, d). Außerdem wandern die NK in den beiden Spindeln stets gleichgerichtet (Abb. 3b, c, d).

2. Weitere NK-Zellen-konstante Arten mit $n = 3 + X$. Hierher gehören *Tipula marginata*, *Pales scurra* und *P. quadristriata*[2]; alle 3 Species weisen den Chromosomenbestand von $n = 3 + X(Y)$ auf (Abb. 4a, b, c), wobei die subtelokinetischen X-Chromosomen bei *T. marginata* die längsten Elemente des Chromosomenbestandes darstellen (Abb. 4a, X_1, X_2), während die X-Chromosomen der beiden *Pales*-Arten verhältnismäßig

[1] Versuche, diese Frage durch Lebendbeobachtungen zu klären, hatten keinen Erfolg. Die Zellen sterben nach spätestens 30 min ab, da der Druck, der notwendig ist, um das die Zellen einer Gruppenmitose umgebende Follikelepithel zu sprengen, sehr groß ist und die Zellen stark schädigt.

[2] *Tipula oleracea* wird gesondert besprochen (s. S. 519).

kurz sind. Entsprechend der Länge der heterochromatischen X-Chromosomen, die auch hier als Bildungsorte fungieren, hat *T. marginata*

Abb. 3a—d. *Tipula lateralis*. Gruppenmitosen der sekundären Oogonien mit Nukleinkörpern. a Metaphase. b Anaphase des 2. Teilungsschrittes. c Anaphase des 3. Teilungsschrittes. d Anaphase des 4. Teilungsschrittes. a Polansicht. b, c, d in Seitenansicht. Schnitt, Heidenhain. Vergr. 2300

sehr große, die beiden *Pales*-Arten kleinere NK, die morphologisch übereinstimmen und entsprechend der gleichen Länge der X-Chromosomen beider Arten (Abb. 4b, c) in gleichen Teilungsschritten von gleicher

Abb. 4a—c. Primäre Oogonienmetaphasen von a *Tipula marginata*, X_1 und X_2 Geschlechtschromosomen. b *Pales scurra*. c *Pales quadristriata*. Schnitt, Heidenhain. Vergr. 2300

Größe sind. Auf- und Abbau der NK dieser 3 Arten folgen den bei *T. lateralis* aufgezeigten Gesetzmäßigkeiten; Unterschiede sind nur in ihrem Verhalten während der Polbewegung vorhanden: so hängen die großen NK bei *T. marginata* den langen Schenkeln der Geschlechts-

chromosomen in der Anaphase der Teilungen der sekundären Oogonien an, während die NK der *Pales*-Arten stets ohne Kontakt wandern.

3. NK-Zellen-konstante Arten ohne Geschlechtschromosomen. Tipula caesia und *T. pruinosa* besitzen keine morphologisch differenzierten Geschlechtschromosomen; ihr Chromosomenbestand ist $n = 3$. Bei ihnen erfolgt die Synthese der extrachromosomalen feulgenpositiven Substanz an den heterochromatischen Regionen der Autosomen und die Zahl der jeweils in 2 Zellen des 2., 3. und 4. Teilungsschrittes auftretenden NK stimmt bei diesen beiden Arten mit der Anzahl der heteropyknotischen Regionen innerhalb des haploiden Chromosomenbestandes überein.

So weist *T. caesia* in jedem der 3 V-förmigen Chromosomen des haploiden Satzes eine heterochromatische Region auf, und dementsprechend treten auch in jeder der beiden NK-Zellen des 2., 3. und 4. Teilungsschrittes bis zu 3 NK auf.

In den beiden etwa gleichschenkligen Homologenpaaren — das Längenverhältnis der Schenkel ist 1:1.2 (Abb. 5c) — ist die Kinetochorenregion heterochromatisch (Abb. 5b). Das Heterochromatin erstreckt sich im längeren Schenkel ungefähr doppelt so weit, wie im kürzeren. Beim 3. Paar — seine Schenkel haben ein Längenverhältnis von 1:2 (Abb. 5c, unten rechts) — sind $^3/_4$ des kurzen Schenkels heterochromatisch (Abb. 5b). Die heterochromatischen Abschnitte bilden in der Interphase 3 Chromocentren, von denen die beiden der nahezu gleichschenkligen Chromosomenpaare langgestreckt und dünn sind und stets benachbart liegen, so daß die an ihnen in der frühen Prophase auftretenden feulgenpositiven Körper miteinander verschmelzen (Abb. 5b). Der 3. NK wird von den ungepaarten terminalen Abschnitten der heterochromatischen kurzen Schenkel des ungleichschenkligen Chromosomenpaares aufgebaut (Abb. 5b). Die NK hängen häufig bis zur späten Prometaphase mit dünnen Fäden an ihren Bildungsorten; diese Verbindungen sind in der Metaphase gelöst. Es treten dann in jeder NK-Zelle 3 rechteckig begrenzte bis birnenförmige NK auf (Abb. 5a), von denen allerdings 2, die NK der beiden nahezu gleichlangen Chromosomenpaare, meist hintereinander (Abb. 5c) oder nebeneinander (Abb. 5a) angeordnet und total oder partiell miteinander verschmolzen sind (Abb. 5a, c). Die NK wandern in der Anaphase ohne Verbindung mit Chromosomen (Abb. 5c, d), verklumpen in der späten Anaphase und liegen in der Telophase den Chromosomen als stark vakuolisierte Kappe an (Abb. 5f).

Wie ein Vergleich von Abb. 5c (2. Teilungsschritt) mit Abb. 5d (4. Teilungsschritt) erkennen läßt, werden die Chromosomen und auch die NK vom 2. zum 4. Teilungsschritt kleiner; die gleiche Größenreduktion konnte bei den anderen untersuchten Arten auch gefunden werden, doch ist sie bei *Tipula caesia* besonders stark ausgeprägt.

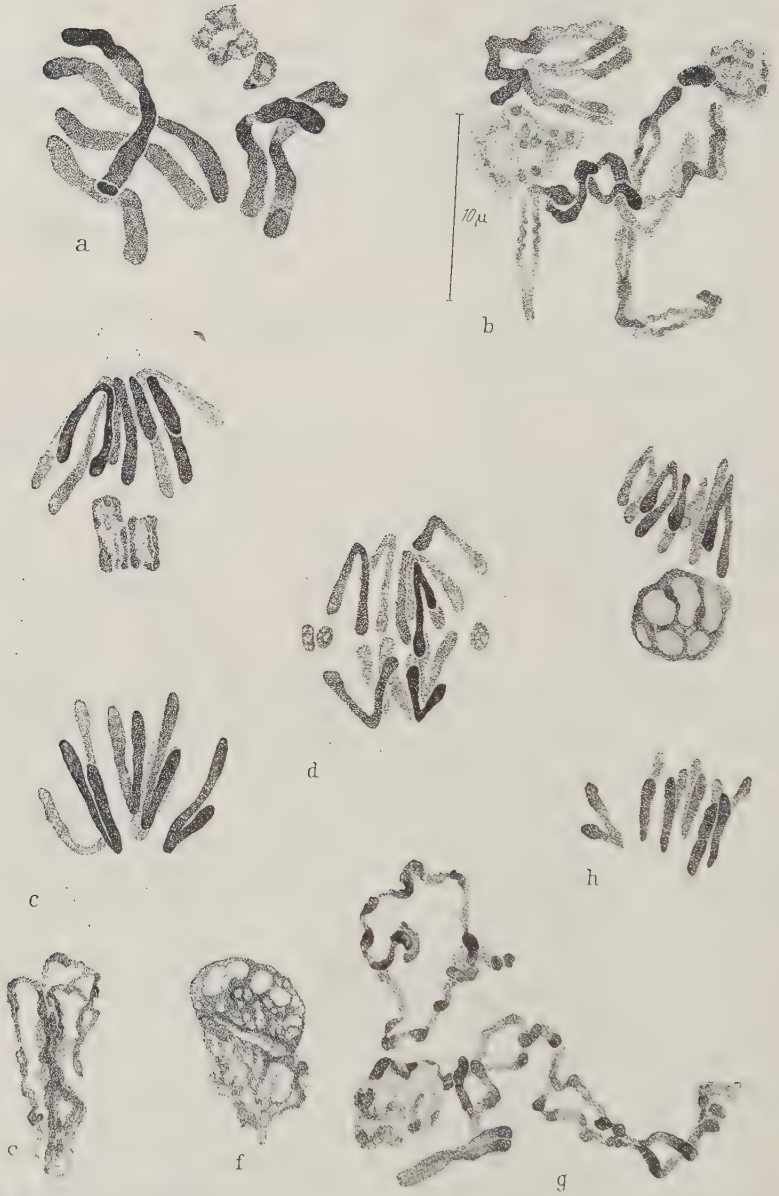

Abb. 5a—h. *Tipula caesia* und *Tipula pruinosa*. *Tipula caesia* a—f. a Metaphase des 2. Teilungsschrittes mit Nukleinkörpern. b Prophase des 2. Teilungsschrittes. c Anaphase des 2. Teilungsschrittes. d Anaphase des 4. Teilungsschrittes. e Telophasegruppe ohne, f mit Nukleinkörper. *Tipula pruinosa* g. h. g Prophase des 2. Teilungsschrittes. h Anaphase des 2. Teilungsschrittes. KE, OEM. Vergr. 2500

Bei *Tipula pruinosa* ist nur in einem der beiden kürzeren Autosomenpaare ein heterochromatischer Abschnitt vorhanden, an dem in der frühen Prophase des 2., 3. und 4. Teilungsschrittes in den beiden NK-Zellen ein NK auftritt (Abb. 5g), der mit großen Vakuolen angefüllt ist und in der Anaphase ohne Verbindung mit den Chromosomen einer Anaphasehälfte folgt (Abb. 5h). Die 3 Autosomenpaare von *T. pruinosa* sind submediokinetisch; ein Paar, in Abb. 5h rechts außen, ist etwas länger als die beiden anderen.

b) Sekundäre Nukleinkörper bei Tipula oleracea

Obgleich auch bei dieser Art die NK in einer doppelten Linie an 2 der 16 Zellen einer Eianlage weitergegeben werden, sind doch geringfügige Abweichungen vom Normalmodus der NK-Bildung und Verteilung bei *T. oleracea* vorhanden, die sie von den anderen Arten mit konstanter Zahl der NK-Zellen trennt und auf eine Entwicklungsstufe zwischen die Arten mit konstanter und variabler Zahl von NK-Zellen stellt.

Der Chromosomenbestand von *Tipula oleracea* ist $n = 3 + X(Y)$ (Abb. 6a). Aufklärung über die Chromosomenform gibt Abb. 6b, c.

Danach liegen 2 gleichlange, mediokinetische Chromosomenpaare vor, von denen 1 Paar in einem Schenkel eine Einschnürung von $^1/_8$ der Schenkellänge aufweist. Das 3. Paar ist submediokinetisch, die Schenkel haben ein Längenverhältnis von 1:1,5. Die Geschlechtschromosomen, als kürzeste Elemente des Satzes, sind subtelokinetisch und total heterochromatisch.

Bei dieser Art enthalten 10% der Zellen (6 von 62) bereits in der Metaphase des 1. Teilungsschrittes der sekundären Oogonien einen großen homogenen NK, der in der frühen Anaphase in eine variable Zahl kleiner NK zerfällt, die ungefähr mengengleich auf beide Anaphasehälften verteilt werden (Abb. 6d) und in der kurzen reticulären Interphase abgebaut werden.

Im Schollenstadium vor dem 2. Teilungsschritt tritt dann in beiden Zellen der neue NK am rundlichen Chromocentrum, den X-Chromosomen, auf. Er ist zunächst klein und homogen; mit zunehmender Größe treten Granula verschiedener Gestalt in zunehmender Anzahl in ihm auf, die regellos in der schwach färbbaren Grundmasse eingebettet sind (Abb. 6e) und nur selten zu größeren Aggregaten oder Strängen verschmelzen. Ihre Einlagerung erfolgt gleichmäßig, eine Anreicherung in den dem Chromocentrum anliegenden Bereich kommt nicht vor. Der NK teilt sich beim Eintritt in die Metaphase des 2. Teilungsschrittes in eine variable Zahl kleiner NK auf (Abb. 6b); diese sind homogen und enthalten in der Metaphase nur noch wenige randständige Granula, aber

nie Vakuolen und folgen in der späten Anaphase ohne Kontakt mit den Geschlechtschromosomen sämtlich der gleichen Tochterplatte.

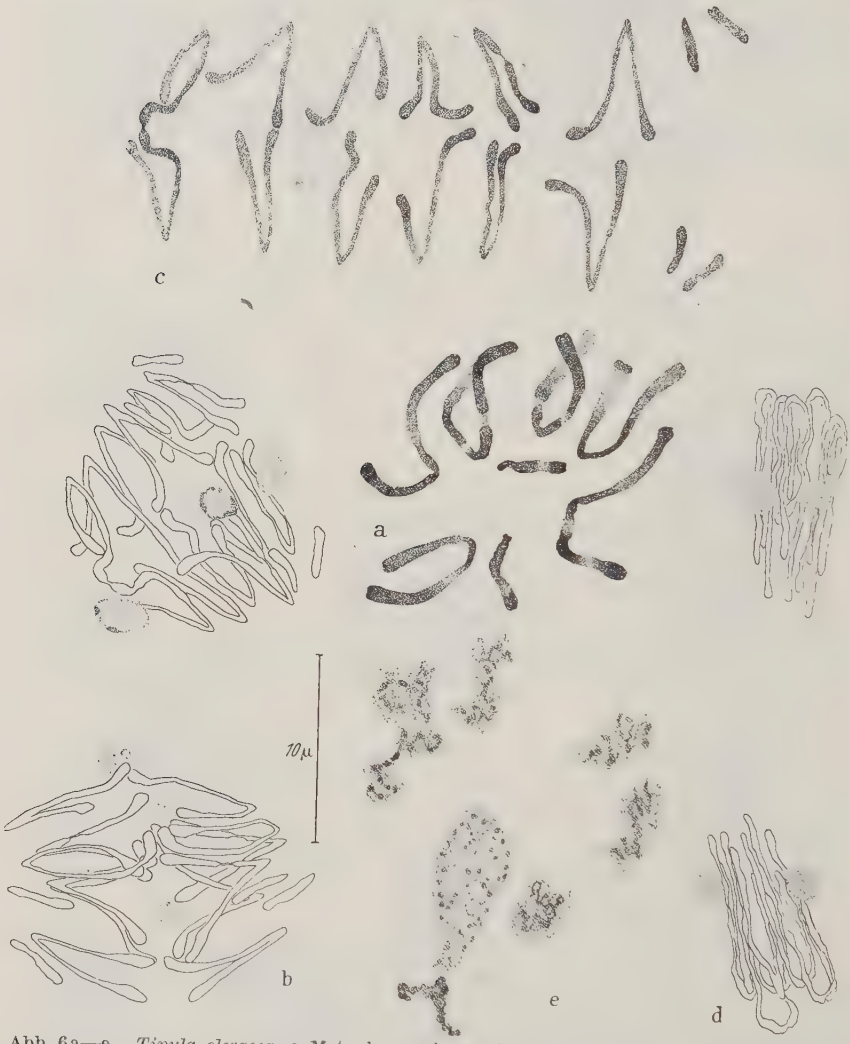

Abb. 6a—e. *Tipula oleracea*. a Metaphase einer sekundären Oogonie. b Anaphase des 2. Teilungsschrittes. c Chromosomen aus der oberen Anaphase von b herausgezeichnet, Homologe nebeneinander angeordnet. d Anaphase des 1. Teilungsschrittes mit Nukleinkörpern. e Schollenstadium, Nukleinkörper hat sich vom Chromocentrum abgelöst. KE, OEM. Vergr. 2500

Im 3. und 4. Teilungsschritt sind die NK dagegen meistens als einzelne kompakte Körper in 2 Metaphasen vorhanden und folgen ungeteilt 2 der 8 bzw. 16 Telophasehälften.

Unabhängig von den beiden großen NK treten in ungefähr 50% der Gruppenmitosen des 4. Teilungsschrittes in einer variablen Zahl der

6 anderen Anaphasen sekundäre kleine NK auf (Abb. 7). Ihre Entstehung ist ungeklärt, doch liegt die Vermutung nahe, daß sie ebenfalls von den heterochromatischen Geschlechtschromosomen aufgebaut

Abb. 7. *Tipula oleracea.* Ana-Telophase des 4. Teilungsschrittes, 2 Anaphasen mit großen, 3 weitere mit kleinen Nukleinkörpern. KE. Vergr. 1300

Abb. 8. *Pales crocata.* Prometaphase des 3. Teilungsschrittes. KE, OEM. Vergr. 2500

werden. In der Anaphase werden sie meistens auf beide Anaphasehälften verteilt. Im gleichen Ovar kommen 16er Gruppen mit und ohne zusätzliche sekundäre NK vor.

c) Arten mit variabler Anzahl von NK-Zellen

Den 7 bisher beschriebenen Arten mit konstanter NK-Zahl steht *Pales crocata* gegenüber, bei der die NK-Bildung nicht streng deter-

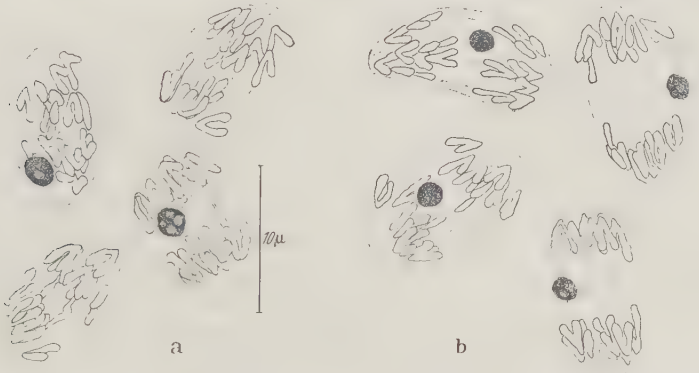

Abb. 9a u. b. *Pales crocata.* Anaphasen des 3. Teilungsschrittes aus dem gleichen Ovar mit a zwei, b vier Nukleinkörpern. Schnitt, Heidenhain. Vergr. 2000

miniert ist. Ihr Chromosomenbestand ist $n = 3 + X(Y)$. Die X-Chromosomen sind subtelokinetisch und total heterochromatisch; die 3 Autosomenpaare sind submediokinetisch (Abb. 8.)

Gruppenmitosen gleicher Teilungsschritte dieser Art weisen inter- und intraindividuelle Schwankungen der NK-Zahl auf. So stellen Abb. 9a, b 2 Anaphasegruppen des 3. Teilungsschrittes aus einem Ovar dar, die 2 bzw. 4 NK enthalten, wobei die Zugehörigkeit der mit 4 NK versehenen 4 Anaphasen zu einer Gruppenmitose durch das Vorhandensein von Zellkoppeln, die zwischen den Abkömmlingen einer sekundären Oogonie auftreten, gesichert ist.

Die Zahl der NK, die in 40 Gruppenmitosen des 2., 3. und 4. Teilungsschrittes aufgetreten sind, zeigt Tabelle 2.

Danach werden auch bei *Pales crocata* die NK normalerweise in der späten Interphase vor dem 2. Teilungsschritt gebildet; die Fälle, in denen nur 1 NK im 3. bzw. 4. Teilungsschritt beobachtet wurde, deuten vielleicht darauf hin, daß hier bereits die 1. Teilung der sekundären Oogonien eine Differentialteilung gewesen ist. Im 3. Teilungsschritt überwiegen dann die Gruppenmitosen mit 2 NK, im 4. Teilungsschritt die mit 4 NK. Da bei *Pales crocata* nie der Fall beobachtet wurde, daß die NK während des 2. oder 3. Teilungsschrittes geteilt und beiden Anaphasehälften zugeordnet wurden, müssen 1—2 der 4 bzw. 8 Interphasekerne in den Fällen, in denen die Zahl der NK im nächsten Teilungsschritt erhöht ist, die Fähigkeit zum Aufbau von neuen NK haben, ohne bei der abgelaufenen Teilung einen aufgenommen zu haben (vgl. Diskussion).

Tabelle 2. *Anzahl der Gruppenmitosen mit 1, 2, 3 bzw. 4 NK in 26 Ovarien von Pales crocata*

	1 NK	2 NK	3 NK	4 NK
2. Teilungsschritt .		3		
3. Teilungsschritt .	1	9		4
4. Teilungsschritt .	1	7	1	14

Wie es bereits für *Tipula caesia* beschrieben wurde, so hat auch *Pales crocata* für jeden Teilungsschritt eine charakteristische NK-Größe, was vermutlich durch die mit der Größenabnahme der Chromosomen einhergehende Verkürzung der heterochromatischen Bildungsorte bedingt ist, da auch die neuauftretenden NK stets die für den entsprechenden Teilungsschritt charakteristische Größe aufweisen. Die NK sind in der Metaphase meist kugelrund und bleiben zunächst in der Äquatorebene liegen (Abb. 9a, b), um erst in der späten Anaphase ohne Verbindung mit den Chromosomen innerhalb der Spindel zu einem Pol zu wandern.

D. Die Chromosomen und Nukleinkörper während der 1. und 2. Wachstumsphase der Oocyten

Nach Abschluß der 4 Teilungsschritte der sekundären Oogonien liegen 16zellige Eianlagen vor, die von einem Follikelepithel umgeben und dadurch gegeneinander abgegrenzt sind.

Bei *Tipula lateralis*, *T. oleracea* und *T. caesia* enthalten 2 der 16 Kerne bei *Pales crocata* — entsprechend der Inkonstanz der NK-Zahl in den

Gruppenmitosen der sekundären Oogonien — 1—4 Kerne je Eianlage einen NK. Die Zellen mit NK sind in der Eianlage stets benachbart angeordnet, die NK liegen der Kernmembran kalottenartig innen an und sind schwach vakuolisiert. Alle Kerne einer Eianlage haben zunächst einen lockeren reticulären Bau; in ihnen treten bei *T. lateralis*, *T. oleracea* und *P. crocata* ein Chromocentrum, bei *T. caesia* meist 3 Chromocentren auf, die einem einheitlichen Nukleolus ansitzen. NK und Chromocentren verschmelzen stets miteinander.

In der 1. Wachstumsphase wachsen alle Zellen einer Eianlage in kurzer Zeit gleichmäßig bis zu einer bestimmten Größe heran. Dabei treten die Chromosomen in den mit NK ausgestatteten Kernen in das Pachytänstadium ein. In der 2. Wachstumsperiode wird eine dieser Zellen nach Entspiralisation des Pachytäns und Auflösung des NK unter starker Volumenzunahme zur definitiven Oocyte; die übrigen 15 Zellen sind Nährzellen.

Eine genaue Beschreibung des Eiwachstums gibt Bauer (1931, 1932, 1933) für *Tipula paludosa*, bei der eine Determination einer bestimmten Zelle zum späteren Ei nicht erfolgt und alle Zellen einer Eianlage — mit und ohne NK — in der 1. Wachstumsperiode ein Pachytänstadium durchlaufen, also die Potenz haben, Eizelle zu werden. Bei den Arten mit geregeltem Verhalten der konstant 2 NK ist diese Potenz nur auf die beiden Zellen der Eianlage beschränkt, in denen die NK auftreten, so daß sich für diese Arten eine plasmatische Determination der beiden Zellen zu präsumptiven Oocyten, ähnlich den Erscheinungen bei den Dytisciden, vermuten läßt (vgl. Diskussion).

Das Verhalten der Chromosomen und NK in den beiden Wachstumsphasen wurde hauptsächlich an *Tipula lateralis* und *T. caesia* untersucht.

1. Wachstumsphase der Oocyten. Die 14 NK-freien Zellen der Eianlagen von *T. lateralis* und *T. caesia* wachsen in der 1. Wachstumsphase kontinuierlich heran und erreichen innerhalb kurzer Zeit ihre definitive Größe. Sie enthalten einen großen Nukleolus und ein reticuläres Interphasegerüst (Abb. 10a, 11b). Die beiden Zellen mit NK bleiben im Wachstum hinter dem der NK-freien Zellen zunächst zurück. Aus ihrem Chromatingerüst treten Fäden mit knotigen Verdichtungen hervor, womit das typische Bild des Pachytänstadiums erreicht wird (Abb. 10b, 11a)

Bei *Tipula lateralis* setzt in den Pachytänkernen, kurz bevor diese die Größe der ausgewachsenen NK-freien Kerne erreichen, die Umbildung der Pachytänstruktur und die Auflösung des NK ein (Abb. 10c); nach dem Größenausgleich der Kerne sind die Chromosomen bis auf einige kleine Chromocentren vollkommen aufgelockert (Abb. 10d). Die NK werden nur unvollständig abgebaut, so daß die beiden Pachytänzellen durch einen wechselnd großen NK-Rest, der aus einer dünnen Rinde und einigen zentralen Vakuolen besteht, markiert bleiben. Der NK-Rest ist

dem Nukleolus angelagert (Abb. 10d). Eine der beiden Zellen mit NK-Rest wird gleich den NK-freien Zellen zur Nährzelle, die 2. Zelle mit NK-Rest tritt in die 2. Wachtumsperiode ein und wird zur definitiven Oocyte.

Bei *T. caesia* wird die Pachytänstruktur am Ende der 1. Wachstumsperiode ebenfalls aufgelockert, die NK bleiben aber im Gegensatz zu *T. lateralis* erhalten. Auch hier wächst nur eine der 2 Zellen mit NK zur Oocyte heran; strukturelle Unterschiede zwischen den beiden Zellen sind nicht zu erkennen.

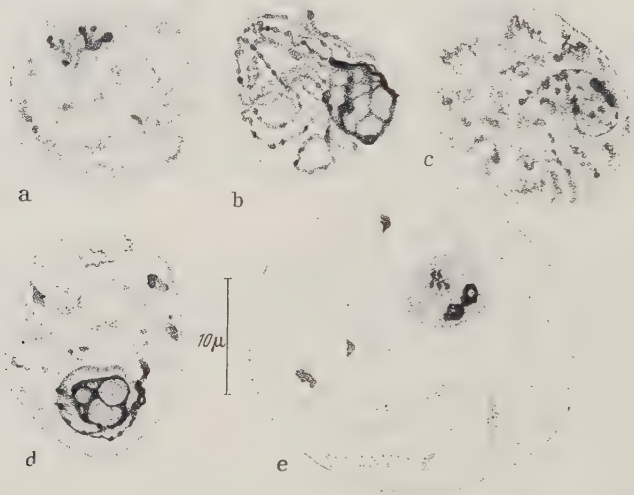

Abb. 10a—e. *Tipula lateralis*. Oocyten, 1. und 2. Wachstumsperiode. a Nährzellkern. b Pachytänkern mit Nukleinkörper. c Pachytänabbau und Nukleinkörperzerfall. d Nach Abbau des Pachytäns, Nukleinkörperrest liegt dem Nukleolus an. e Definitive Oocyte zu Beginn der 2. Wachstumsphase. KE, OEM. Vergr. 1300

2. Wachstumsphase der Oocyten. In der 2. Wachstumsphase der definitiven Oocyte von *T. lateralis* wird der NK-Rest im Nukleolus (Abb. 10e, oberhalb des hantelförmigen Chromocentrums) langsam aufgelöst; danach erfolgt der Abbau des Nukleolus und die Auflockerung der Chromocentren. In den Oocytenkernen lassen sich danach keine feulgenpositiven Strukturen mehr nachweisen; auch nach Färbung mit Eisenhämatoxylin erscheint der Oocytenkern strukturlos.

Zu Beginn der 2. Wachstumsperiode tritt in der definitiven Oocyte von *T. caesia* der Nukleolus aus dem NK aus und legt sich ihm peripher an. Dann erscheint im NK eine große Anzahl Vakuolen, von denen zunächst einige peripher gelegene abgespalten werden, bis schließlich der NK in eine große Anzahl verschieden geformter Granula zerfällt (Abb. 11d), die sich langsam auflösen. Der Bereich um die sich auflösenden Granula gibt eine gleichmäßige schwache Feulgen-Reaktion. Am Nukleolus bleibt ein Rest des NK längere Zeit erhalten (Abb. 11e). Nach dem Verschwinden des Nukleolus und NK-Restes enthalten die Oocyten von *T. caesia*

nur noch die 3 Chromocentren (Abb. 11f), die sich kurz danach auch auflösen.

Am 6. Tag der bei *Tipula lateralis* 7 Tage währenden Puppenruhe erreicht der Oocytenkern seine maximale Größe. Er ist zentral in der der

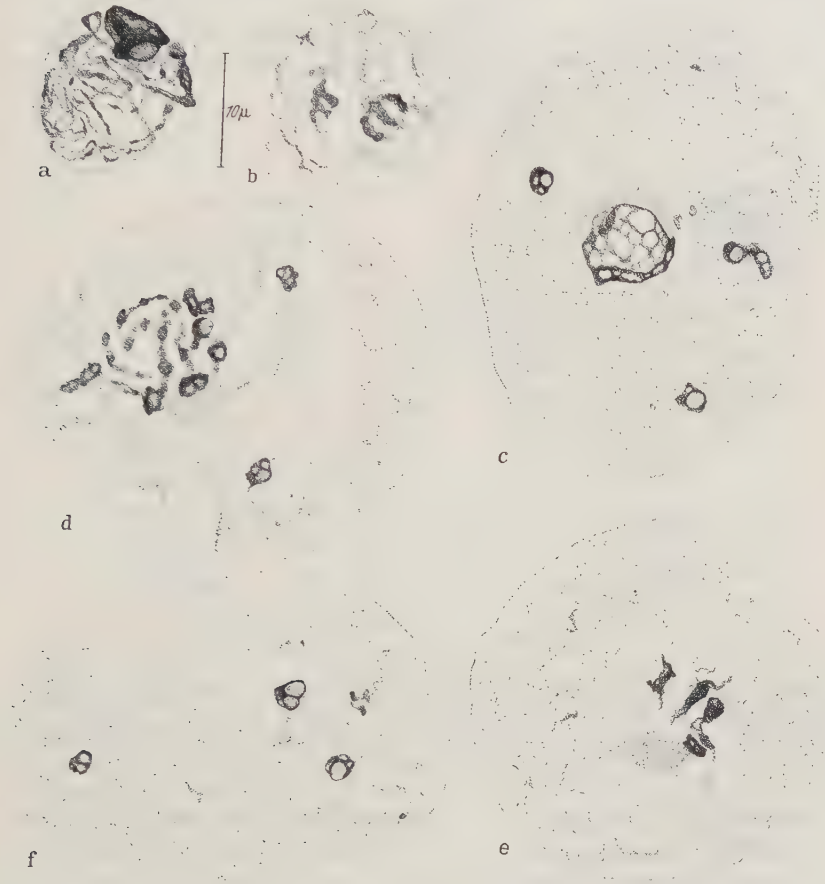

Abb. 11a—f. *Tipula caesia*. a, b erste, c—f 2. Wachstumsperiode. a Oocytenkern mit Nukleinkörper und Pachytän. b Ausgewachsener Nährzellkern. c Vakuolisierung des Nukleinkörpers, Nukleolus liegt dem Nukleinkörper peripher an. d Zerfall des Nukleinkörpers. e Nukleinkörper bis auf einen kleinen Rest am Nukleolus abgebaut. f Nach vollzogenem Abbau liegen nur die 3 Chromocentren vor. KE, OEM. Vergr. 1300

Mikropyle genäherten Eihälfte eingeordnet und hat eine ovale Form. In dem bis dahin homogenen Oocytenkern erscheint eine meist sichelförmige lockere Karyosphäre mit schwacher Feulgen-Reaktion (Abb. 12a) in deren homogene Grundmasse kleine Vakuolen eingebettet sind (Abb. 12b). Am 7. Tage der Puppenruhe ist der Oocytenkern nahezu rund und hat nur die halbe Größe des Kerns des Vortages (Abb. 12c). Die Vakuolen sind zu einem großen Nukleolus zusammengetreten, dem

das stark kondensierte feulgenpositive Material kalottenartig anliegt. Kurz vor dem Schlüpfen der ♀-Imago ist der Oocytenkern abgeplattet unterhalb der Mikropyle zu finden (Abb. 12e); die Karyosphäre hat den Nukleolus umschlossen und liegt innerhalb des Kerns der Mikropyle genähert (Abb. 12f).

Die Auflösung der Karyosphäre. Ungefähr 24 Std nach dem Schlüpfen der Weibchen löst sich bei *Tipula lateralis* und *T. caesia* die Kern-

Abb. 12a—g. *Tipula lateralis.* a Ausgewachsener Oocytenkern, Beginn der Chromatinballung. b aus a herausgezeichnet, in die lockere Chromatinmasse sind kleine Nukleolen eingebettet. c Verminderung des Kernvolumens. d Das Chromatin liegt dem Nukleolus kalottenartig an. d aus c herausgezeichnet. e Vakuolisierte Karyosphäre. f Dieselbe stärker vergrößert. g Karyosphäre nach Auflösung des Nukleolus, stärker vergrößert in Abb. 17a. a, c, e, g Vergr. 500. b, d, f Vergr. 1800. Schnitt, Feulgen

membran des Oocytenkerns und gleichzeitig der Nukleolus in der Karyosphäre auf. Angezeigt wird der Umbau durch das Auftreten feulgenpositiver Granula wechselnder Zahl und Größe in der Umgebung der Karyosphäre (Abb. 13a). Danach nimmt die Karyosphäre eine unregelmäßige rhombische Form an (Abb. 13b) und liegt in einem kleinen Plasmahof unterhalb der Mikropyle. Ihre Längsachse ist radiär zur Eioberfläche eingeordnet; innerhalb der Karyosphäre lassen sich bei *T. caesia* stets 2 der 3 rhombischen Tetraden deutlich erkennen; die dritte ist überdeckt. Ihre Längsachsen liegen parallel zueinander und bilden die Längsachse der Karyosphäre. Ihre seitlichen Ausbuchtungen sind die chiasmatisch gepaarten Schenkel der Bivalente (Abb. 13b).

Bei *Tipula lateralis* heben sich die 3 Bivalente als dunkler gefärbte Rhomben gegen die feulgenpositive Verbindungssubstanz deutlich ab.

Die Spindelansatzregionen der Bivalente ragen aus der Karyosphäre zipfelartig hervor (Abb. 12g, 17a). Wie bei *T. caesia* sind die Bivalente schon vor dem Auftreten der Spindel innerhalb der Karyosphäre parallel zueinander und radiär zur Eioberfläche eingeordnet. Die in den befruchteten Eiern nach der Ablage auftretenden Spindeln werden stets in Richtung der Karyosphärenlängsachse angelegt.

Beim Austritt der Chromosomen aus der Karyosphäre bildet die extrachromosomale feulgenpositive Karyosphärensubstanz Granula wechselnder Zahl und Größe; dieses außerhalb der Spindel liegende Material ist bei allen Arten vorhanden, in besonders großer Masse bei *Pales crocata* (Abb. 14a). Es ist bis zur Metaphase I verschwunden.

Abb. 13a—c. *Tipula caesia*. Auflösung der Karyosphäre. a Vakuolisierte Karyosphäre. b Rhombische Karyosphäre nach Auflösung des Nukleolus. c Kurz nach Ablage des befruchteten Eies, die Bivalente treten als kompakte Rhomben aus der Karyosphäre aus. Schnitt, Feulgen. Vergr. 3000

E. Die Reifeteilungen im Ei

I. Allgemeines

Die meiotischen Prophasestadien laufen — außer dem Pachytän, das in den präsumptiven Oocyten während der 1. Wachstumsphase auftritt — teils in völlig diffusen Stadien des Oocytenkerns, teils verkappt in der Karyosphäre ab, zu der sich die Chromosomen in einem artspezifisch verschiedenen Zeitpunkt nach Abschluß des Wachstums der definitiven Oocyte zusammenballen. In dem die Karyosphäre aufbauenden extrachromosomalen feulgenpositiven Material sind auch in Quetschpräparaten isolierter Oocytenkerne keine Chromosomen als individuelle Strukturen erkennbar. Erst nach Auflösung des Nukleolus der Karyosphäre lassen sich die rhombischen Tetraden gegeneinander abgrenzen, doch hängen ihnen große Mengen extrachromosomalen feulgenpositiven Materials an, so daß Einzelheiten nicht zu ermitteln sind. Somit muß sich die Untersuchung auf den Ablauf der beiden Reifeteilungen beschränken. Auskunft über die Zeitfolge der Meiose der 6 beschriebenen Arten gibt Tabelle 3.

Die Autosomen der untersuchten Arten sind in der RT I chiasmatisch gepaart und verhalten sich im Verlauf der Meiose recht gleichartig.

Tabelle 3. *Zeitlicher Ablauf der Reifeteilungen in Minuten*

Stadien	Arten					
	P. crocata	*P. pratensis*	*T. lateralis*	*T. oleracea*	*T. paludosa*	*T. caesia*
Metaphase . .	35 (14c)	35 (15a)	18 (17f)	12 (19a)	20 (20a)	40 (21d)
Anaphase I .	65 (14e)	60 (15c)	25 (17h)	30 (19d)	40 (20e)	55 (21f)
Telophase I .	95 (16a)		30 (17i)	50 (19e)	60 (20g)	65 (22a)
Auftreten des Spindelmittelkörpers			45 (18a)	60 (19f)		80 (22b)
Metaphase II.			60 (18b)	75		90 (19i)
Anaphase II .	120 (16b)		70 (18c)			110 (23b)
Telophase II .	135 (16c)		85 (18d)	90 (19i)		130 (23d)

Die eingeklammerten Nummern verweisen auf die Abbildungen.

Dagegen sind die Geschlechtschromosomen durch abweichendes Verhalten ausgezeichnet und sind entweder achiasmatisch oder überhaupt nicht gepaart. Die Arten mit gleichem Paarungsmodus der Geschlechtschromosomen werden gemeinsam besprochen.

II. Der Ablauf der Reifeteilungen und das Chromosomenverhalten

a) Arten mit achiasmatischer Paarung der Geschlechtschromosomen

Pales crocata und *P. pratensis*. Nach der Auflösung der Karyosphäre sind die 3 Tetraden von *Pales crocata* als kompakte Rhomben in einem Plasmahof nahe dem Chorion eingebettet. Ihre Längsachsen liegen parallel, die als seitliche Ausbuchtungen der Tetraden erkennbaren Chiasmen in einer Ebene (Abb. 14a). Die J-förmigen Geschlechtschromosomen treten stets deutlich von den Autosomentetraden getrennt aus der Karyosphäre aus. Sie sind in den meisten Zellen mit ihren langen Schenkeln terminal oder subterminal gepaart.

Nur in 2 von 47 untersuchten Eiern eines Geleges waren die Geschlechtschromosomen kurz nach Auflösung der Karyosphäre ungepaart (Abb. 14a). In 55 Prometaphasen und Metaphasen I des gleichen Geleges und in gleichen Stadien von 5 anderen Gelegen — insgesamt 180 Metaphasen I — bildeten sie andererseits stets ein Bivalent. Danach ist es wahrscheinlich, daß die ausnahmsweise ungepaart aus der Karyosphäre heraustretenden Heterosomen in der späten Prophase noch ein Bivalent bilden.

Die terminal gepaarten Geschlechtschromosomen bilden mit ihren langen Schenkeln ein weitklaffendes V, das mit seiner Öffnung den Tetraden stets zugekehrt ist (Abb. 14a, b). Der Winkel zwischen den beiden Chromosomen — auch zwischen Univalenten — beträgt vor Ausbildung der Spindel 120—140° (Abb. 14a), vergrößert sich im Laufe der Prometaphasestreckung (Abb. 14b) und beträgt in der Metaphase I

meist 180° (Abb. 14c). Die proximal der Paarungsbereiche gelegenen Abschnitte der langen Schenkel erfahren bei der in der Prometaphase und Metaphase I erfolgenden geradlinigen Ausrichtung des Bivalents

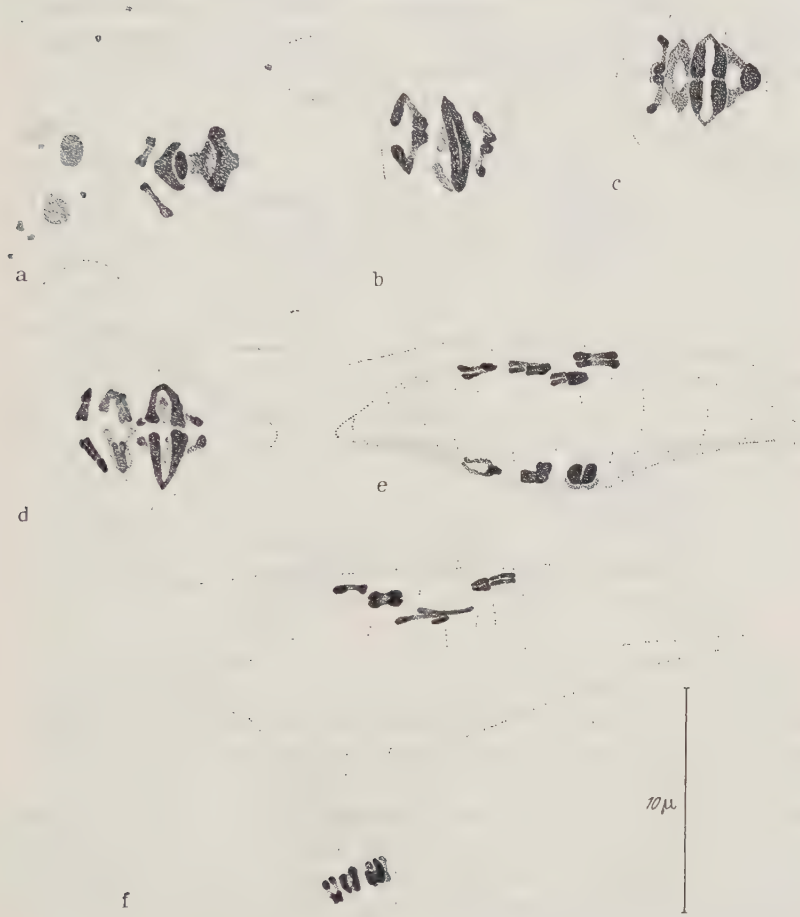

Abb. 14a—f. *Pales crocata*. Stadien der 1. Reifeteilung. a Kurz nach Auflösung der Karyosphäre. Die Längsachsen der Bivalente stehen senkrecht auf dem Chorion, dessen innere Begrenzung in den Abbildungen eingezeichnet ist. Die Heterosomen sind ungepaart. Feulgenpositive Grana umgeben die Chromosomen. b Prometaphase. c Metaphase. d Frühe Anaphase. e Mittlere, f späte Anaphase. Schnitt, Feulgen. Vergr. 3000

zwischen den Polen keine Entspiralisierung. In der Metaphase I sind die kurzen Schenkel der Heterosomen meist polwärts umgeklappt (Abb. 14c).

In ungefähr 60% der untersuchten 55 Prometaphasen und Metaphasen I sind die Geschlechtschromosomen wie normale Bivalente

gepaart, es fehlt jedoch stets eine Chiasmenlücke, und in den distal der gepaarten Bereiche gelegenen Chromosomenenden sind die Chromatiden nicht auseinandergespreizt. In den restlichen 40% der untersuchten Zellen ist das Geschlechtschromosomenbivalent abweichend gepaart, die Paarungsbereiche und mit ihnen die ganzen Geschlechtschromosomen sind bis zu 90° gegeneinander versetzt, so daß sich die kurzen, distal der gepaarten Bereiche gelegenen, freien Abschnitte kreuzweise überschnei-

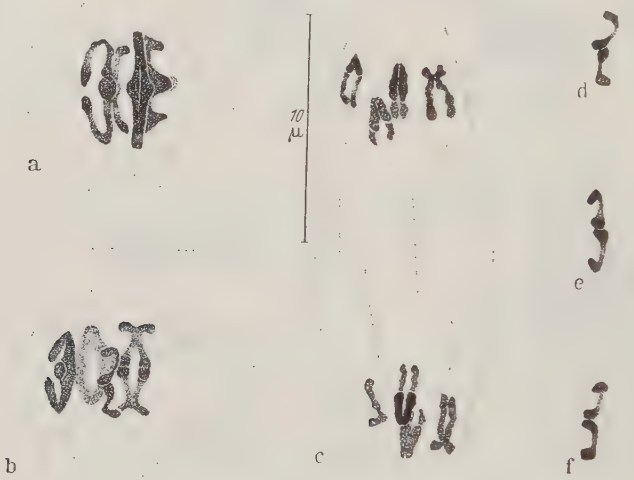

Abb. 15a—f. *Pales pratensis*. RT I. a, b Metaphase. c Anaphase. d—f Geschlechtschromosomenbivalente. Schnitt, Feulgen. Vergr. 3000

den. Der größere Teil der abweichenden Geschlechtsbivalente ist überhaupt nur an den äußersten Chromatidenenden vereint. Die Chromosomenenden stehen dann — entsprechend dem Grade der Versetzung — mehr oder weniger kreuzweise aufeinander. In Abb. 14b sind die Chromosomen um ungefähr 60° gegeneinander versetzt, das obere Chromosom des Bivalents erscheint daher breiter als das untere. Beide berühren sich nur im Bereich je einer Chromatide.

Das gleiche abweichende Verhalten zeigen die Geschlechtschromosomen von *Pales pratensis*, bei der in 19 der 32 untersuchten Metaphasen I (etwa 60%) die Partner des Geschlechtschromosomenbivalents gegeneinander gedreht waren, und zwar in den meisten Fällen um ungefähr 90° (Abb. 15b), vereinzelt aber auch um ungefähr 180° (Abb. 15d). Da bei *P. pratensis* die ungepaarten Chromosomenendabschnitte innerhalb eines Geschlechtschromosomenbivalents meistens verschieden lang sind, kann aus der Länge des längsten überstehenden Abschnittes (Abb. 15d) und dem Bereich, mit dem das andere Homologe Kontakt

hat, die Gesamtlänge des Paarungssegmentes bestimmt werden, das sich ungefähr über das letzte Drittel des langen Schenkels der Heterochromosomen erstreckt. Dagegen ist der Paarungsbereich bei *Pales crocata* nur auf einen kurzen subterminalen Abschnitt beschränkt, der höchstens ein Fünftel des langen Schenkels ausmacht. Den Längenunterschied der in der Metaphase I lateral gepaarten Abschnitte der Heterosomen zeigt auch ein Vergleich von Abb. 15d *(P. pratensis)* und Abb. 14c *(P. crocata)*. Bei *P. pratensis* wurde niemals terminale Paarung gefunden.

Die stärkere Spiralisation der subterminalen Abschnitte der Homologen des Geschlechtschromosomenbivalents in der Metaphase I (Abb. 14b, c, 15b, d, e, f) ist in der frühen Anaphase bereits ausgeglichen (Abb. 14d). Bei beiden Arten ist in den Heterochromosomen nach der Trennung kein Chromatidenspalt sichtbar (Abb. 15d). Dieser tritt vereinzelt in der späten Anaphase auf (Abb. 14e, 16c).

Wie ein Vergleich der Tetradenlänge in Abb. 14a und b zeigt, erfahren die Autosomenbivalente von *Pales crocata* in der Prometaphase eine geringe, aber deutliche Streckung. Die Tetraden sind in diesem Stadium auf verschiedener Höhe zwischen den Polen angeordnet, die chiasmafreien Schenkel der monochiasmatischen Bivalente haben sich voneinander gelöst (Abb. 14b). In der Metaphase I liegen die Bivalente wieder in einer Ebene (Abb. 14c), dabei kann die erneute Kontraktion der chiasmaproximalen Abschnitte soweit gehen, daß die in der Prometaphase getrennten chiasmafreien Schenkel (zwischen denen aber vielleicht noch ein Verbindungsfaden erhalten bleibt) wieder terminal vereinigt werden (Abb. 14c).

Die metaphasische Chiasmenhäufigkeit von *Pales crocata* ist 3—4 je Zelle. Die dichiasmatischen Bivalente sind in der Metaphase I im Bereich der Kinetochoren oft stark entspiralisiert (Abb. 14c).

In der Anaphase I lösen sich die Homologen gleichzeitig voneinander (Abb. 14d); ihre Schenkel sind in die Chromatiden aufgespalten und die chiasmadistalen Chromatidenenden kolbenartig verdickt (Abb. 14d). Gleichzeitig setzt eine starke Verbreiterung der Spindel in der Äquatorialebene ein, mit der eine Verkürzung der Spindellängsachse einhergeht (Abb. 14e). In der späten Anaphase I liegen die Dyaden der peripheren Anaphasegruppe I entweder mit beiden Schenkeln (Abb. 14e, rechte Dyade, 14f, zweite von links), oder — wenn das Umklappen der Schenkel unterbleibt — mit dem langen Schenkel dem abgeplatteten Pol an (Abb. 14e, die 3 von links, 14f, rechts und links außen). Die Dyaden der inneren Anaphasegruppe I sind stark kontrahiert und behalten die V-Form bei und wandern in die im Bereich der inneren Anaphasegruppe auftretende zungenartige Ausbuchtung der Spindel ein (Abb. 14f). In der Telophase I tritt in den umgeklappten Dyaden ein deutlicher Chromatidenspalt auf (Abb. 16a). Ein Interkinese-Ruhekern-

Stadium wird nicht durchlaufen; die Telophasechromosomen ordnen sich direkt zur Metaphase II um.

In der inneren Spindel teilen sich die Chromosomen synchron und wandern in der Anaphase auf gleicher Höhe polwärts (Abb. 16b); die innere Telophasegruppe bildet den ♀-Vorkern (Abb. 16c). In der Anaphase II der peripheren Spindel trennen sich dagegen die Chromosomen

Abb. 16a—c. *Pales crocata*. a Telophase I. b Anaphase II. c Telophase II. Die Benennung der Stadien in der RT II erfolgt nach dem Stand der Chromosomenteilung in der inneren Spindel. Schnitt, Feulgen. Vergr. 3000

nicht gleichzeitig (Abb. 16b). Verschieden lange Abschnitte der Anaphasechromosomen können polwärts umgeklappt sein (Abb. 16b).

Der Autosomenbestand von *Pales pratensis* setzt sich aus 2 nahezu gleichschenkligen Tetraden (Abb. 15a, b, 1. und 2. Tetrade von links) und einer stark ungleichschenkligen Tetrade (Abb. 15a rechts, teilweise verdeckt, und Abb. 15b rechts außen) zusammen. Die metaphasische Chiasmenhäufigkeit beträgt 3—5 je Zelle. Die Homologen des stark ungleichschenkligen Bivalents sind nur im langen Schenkel durch ein Chiasma vereinigt. Die kurzen Schenkel sind bereits in der Metaphase in

ihre Chromatiden aufgespalten und polwärts umgeklappt (Abb. 15b, rechte Tetrade). Die Schenkel, die chiasmatisch gepaart waren, sind in der Anaphase weniger kontrahiert und haben stärker klaffende Chromatiden (Abb. 15c).

b) Arten ohne Paarung der Geschlechtschromosomen

Tipula lateralis. Bei *Tipula lateralis* lösen sich die Geschlechtschromosomen ungepaart aus der Karyosphäre (Abb. 17b) und liegen während der RT I als Univalente vor (Abb. 17b, c, d, e, f). Sie eilen bis zur späten Anaphase I polwärts voraus (Abb. 17i), und zwar peripher in der Spindel, deutlich von den Autosomen getrennt (Abb. 17d). Zunächst sind die Schenkel der Univalenten über ihre ganze Länge vereint (Abb. 17b, c), doch geben sie den Kontakt mit beginnender Entspiralisation in den proximalen Regionen auf. Danach sind nur noch die stärker kontrahierten Endabschnitte vereint oder einander stark genähert (Abb. 17d, g). In der späten Anaphase ist die maximale Entspiralisation erreicht (Abb. 17h). Vereinzelt läßt sich dann der Chromatidenspalt in den verdickten Enden erkennen (Abb. 17h). Die beiden Schenkel sind meistens gleich lang (Abb. 17d, g_1) und haben nur selten das mitotische Längenverhältnis von 1:2 (Abb. 17e, f, h). In der Telophase I unterscheiden sich die Geschlechtschromosomen durch ihre geringere Kontraktion deutlich von den Autosomen (Abb. 18a).

Die metaphasische Chiasmenhäufigkeit bei *Tipula lateralis* ist 3—5 je Zelle. Die Autosomentetraden zeigen eine starke Prometaphasestrekkung, wie ein Vergleich der Tetradenlängen von Abb. 17b und f erkennen läßt. In der frühen Anaphase tritt deutlich der Chromatidenspalt auf. Die chiasmadistalen Abschnitte der auseinanderweichenden Homologen sind oft durch chromatische Fäden verbunden (Abb. 17g).

Die Umordnung der Chromosomen zur Metaphase II und die Trennung der Chromatiden erfolgt in der peripheren Chromosomengruppe asynchron. Innerhalb einer Spindel treten getrennte Chromatiden und noch nicht eingeordnete Dyaden nebeneinander auf (Abb. 18c). Die Autosomen ordnen sich vor der Teilung stets in einer Ebene an, während sich die Heterosomen ohne vorherige Umordnung teilen können (Abbildung 18b, d).

In der inneren Spindel ordnen sich alle Chromosomen gleichzeitig zur Metaphase II um und treten synchron in die Anaphase II ein (Abb. 18b, c). In der frühen Anaphase II eilen die Geschlechtschromosomen voraus (Abb. 18c).

Tipula oleracea. Auch bei *Tipula oleracea* liegen die Geschlechtschromosomen in der RT I als Univalente vor und treten ungepaart aus

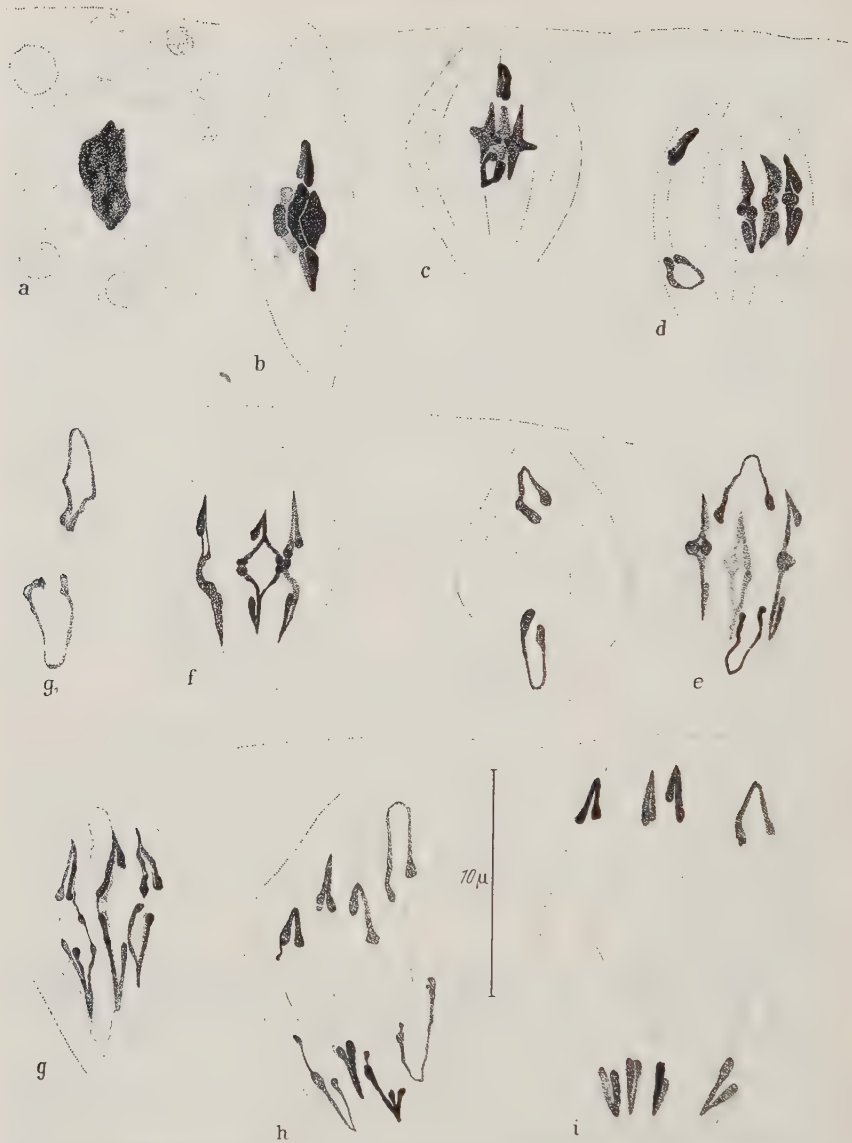

Abb. 17a–i. *Tipula lateralis*. Erste Reifeteilung. a Karyosphäre im Ei kurz vor dessen Ablage. Die radiär eingeordneten Bivalente lassen sich gegeneinander abgrenzen. Die Kinetochorenregionen ragen zipfelartig hervor. b–d Prometaphase. e, f Metaphase; in f bilden die Univalenten eine separate Spindel. g Frühe Anaphase; g_1 Geschlechtschromosomen aus g herausgezeichnet. h Mittlere, i späte Anaphase. Schnitt, Feulgen. Vergr. 3000

der Karyosphäre aus. In der Metaphase I sind sie in der Spindel übereinander angeordnet (Abb. 19a) und wandern bis zur mittleren Anaphase den Autosomen voraus (Abb. 19a, b, c). Die metaphasische Chiasmen-

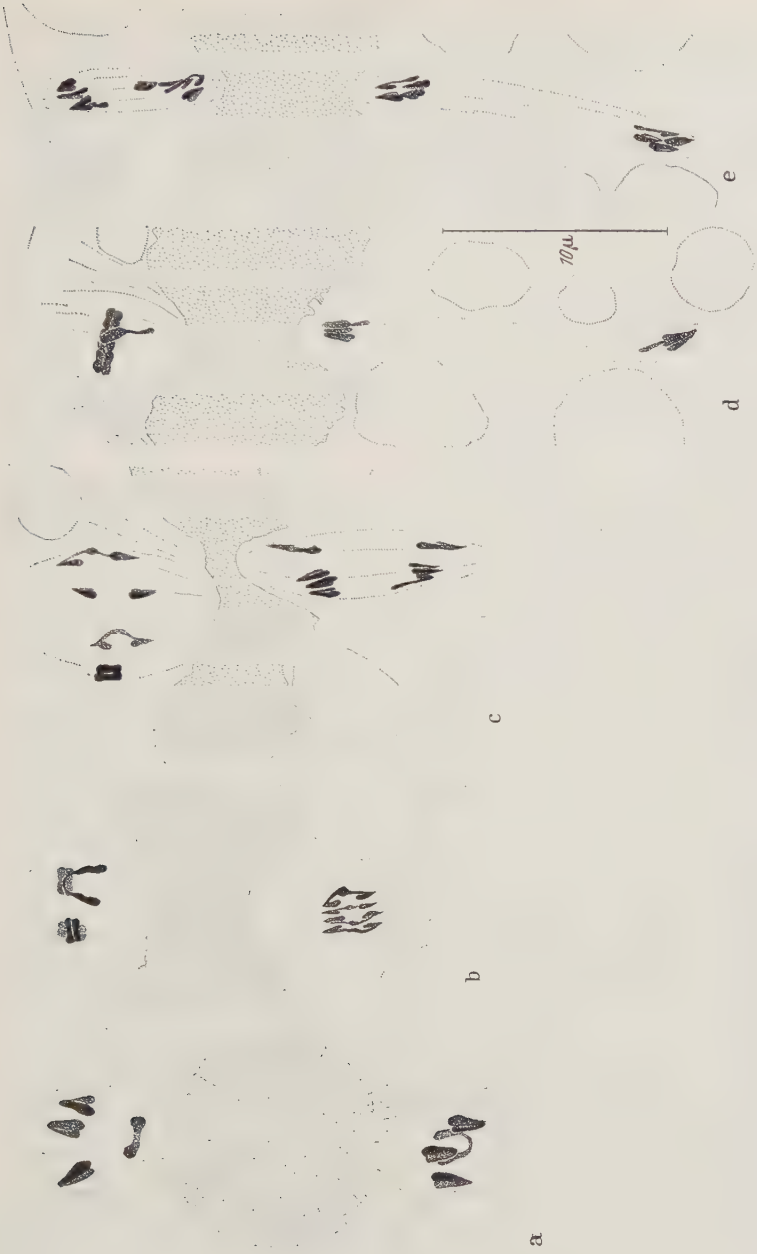

Abb. 18 a—e. *Tipula lateralis*. a Telophase I. b—e Zweite Reifeteilung. b Frühe, c mittlere Anaphase. d, e Späte Anaphase-Telophase II. Schnitt, Feulgen. Vergr. 3000

häufigkeit bei *T. oleracea* ist 4—5 je Zelle; eine der 3 Tetraden — durch die langen chiasmadistalen Abschnitte im langen Arm gekennzeichnet — stellt das Bivalent des ungleichschenkligen Autosomenpaares dar und

hat in jedem Arm ein Chiasma (Abb. 19a). In der frühen Anaphase setzt eine starke Entspiralisation der Chromatiden ein (Abb. 19c), deren Maximum in Abb. 19d dargestellt ist. Die Chromatiden haben dann nur noch im Bereich der Kinetochoren Kontakt. Die Schenkel, die chiasmatisch gepaart waren, sind stärker entspiralisiert; ihre kontrahierten chiasmadistalen Abschnitte heben sich deutlich von den dünnen chiasmaproximalen Bereichen ab (Abb. 19d). In der späten Anaphase kontrahieren sich die gestreckten Abschnitte, wobei der lange Schenkel der ungleichschenkligen Dyade am längsten entspiralisiert bleibt (Abb. 19e). Zugleich legen sich die Chromatiden wieder in ihrer ganzen Länge eng aneinander.

Nach der Umordnung der Telophasechromosomen zur Metaphase II erfolgt ihre Teilung in der inneren Spindel normal (Abb. 19i) und führt zur Bildung des ♀-Vorkerns.

In der peripheren Spindel der 2. Reifeteilung ist die Umordnung dagegen unvollkommen, und eine wechselnde Zahl der Chromosomen behält die telophasische V-Form bei (Abb. 19f). Der mittlere Abstand der Kinetochoren der peripheren Dyadengruppe vom Chorion beträgt in diesem Stadium 15,6 Maßeinheiten (15 Zellen). Nach starker Entspiralisation lösen sich die Chromatiden voneinander. Während die Chromatiden der äußeren Anaphasehälfte auf verschiedener Höhe polwärts wandern (Abb. 19g, h), wobei wechselnd lange Schenkelabschnitte vorauseilen (Abb. 19g, h), schreitet der Abbau der Spindelfasern — vom inneren Teil der peripheren Spindel ausgehend — schnell weiter nach außen fort, so daß die innere Chromatidengruppe kurz nach der Trennung von den Schwesterchromatiden in einen Spindelbereich ohne Spindelfasern zu liegen kommt (Abb. 19g, h). Ihre Schenkel sind stets eieinwärts gerichtet (Abb. 19g, h). In der späten Anaphase II beträgt der mittlere Abstand der Kinetochoren der inneren Chromatidengruppe vom Chorion 22,5 Maßeinheiten (15 Zellen), ihr Abstand von der Grenze zwischen der peripheren Spindel und dem Spindelmittelkörper bleibt dagegen ungefähr der gleiche wie in der Telophase I. Daraus ergibt sich, daß die Chromosomen der inneren Gruppe keinerlei oder nur ganz geringe zentripetale Bewegungen ausführen und daß die Vergrößerung des Abstands ihrer Kinetochoren vom Chorion allein durch die Streckung der äußeren Spindelhälfte der peripheren Spindel bedingt ist.

Tipula paludosa. Neben dem normalen diploiden Chromosomenbestand von $n = 3 + X(Y)$ fand BAUER (1931) bis zu 4 überzählige Chromosomen. Diese sind kleiner als die Geschlechtschromosomen, sind gleich diesen heterochromatisch und zeigen wie die Heterosomen weder Paarung untereinander, noch mit Autosomenabschnitten. Die Anzahl der Überzähligen schwankt inter- und intraindividuell; ihre Entstehung

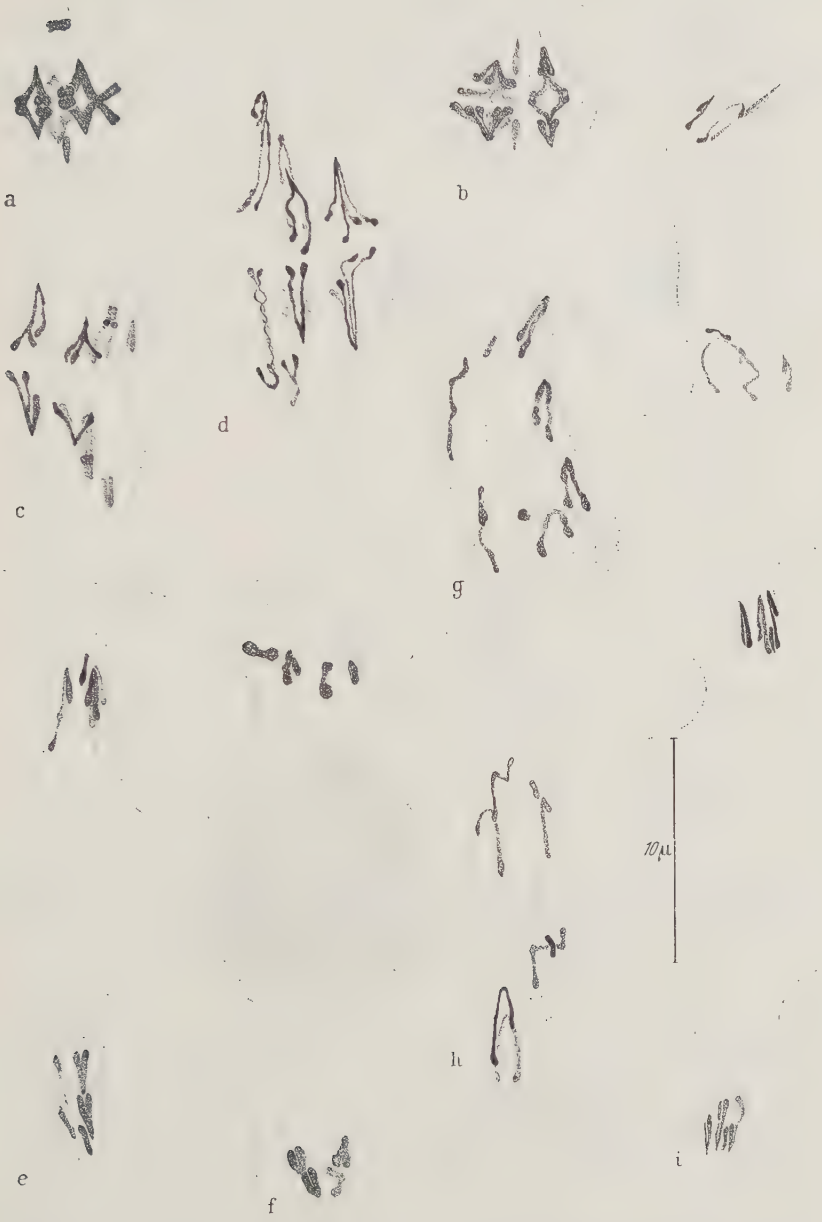

Abb. 19a—i. *Tipula oleracea*. a—f RT I. g—i RT II. a Metaphase. b Frühe Anaphase. c Mittlere Anaphase. d Späte Anaphase. e, f Telophase. g, h Periphere Spindel der RT II. i Späte Anaphase II. Schnitt, Feulgen. Vergr. 3000

ist ungeklärt (vgl. BAUER 1956). Das Verhalten dieser Überzähligen in der 1. Reifeteilung im Ei wird im folgenden beschrieben.

Ungefähr 25 min nach Ablage des befruchteten Eies sind die Tetraden auf gleicher Höhe in der Spindel eingeordnet (Abb. 20a); die metaphasische Chiasmenhäufigkeit der Autosomen ist 3—4 je Zelle. Die Trennung

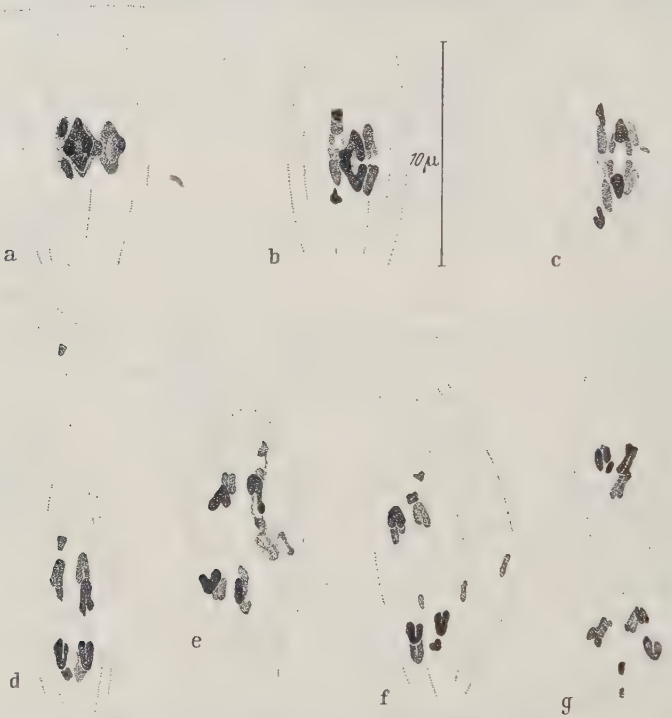

Abb. 20a—g. *Tipula paludosa*. Stadien der 1. Reifeteilung. a Metaphase, die Geschlechtschromosomen (links) sind durch feulgenpositive Substanz verklebt. b, c Frühe Anaphase. d, e, f Mittlere bis späte Anaphase. g Telophase. In c, d, e, g ist ein Überzähliges, in f sind 4 vorhanden. Das Überzählige in e ist mit der feulgenpositiven Substanz durch einen Chromatinfaden verbunden. Schnitt, Feulgen. Vergr. 3000

der Tetraden erfolgt ungleichzeitig (Abb. 20b, c), und die nach dem Lösen der Chiasmen zunächst weitklaffenden Chromatiden (Abb. 20b, c) sind bis zur späten Anaphase wieder vereint und stark kontrahiert (Abb. 20d, e, f). Erst bei der Umordnung der Telophasechromosomen zur Metaphase II tritt ein Chromatidenspalt wieder deutlich auf (Abb. 20g).

Die Anordnung der Geschlechtschromosomen in der RT I im Ei ist — im Gegensatz zur Spermatogenese — konstant. Sie liegen ungepaart übereinander in der Spindel und sind häufig in eine zwischen ihnen ausgespannte feulgenpositive Masse eingebettet (Abb. 20a). Ihre Kinetochoren sind mit denen der Tetraden in der Metaphase in einer Ebene

angeordnet (Abb. 20a). In der frühen Anaphase lösen sich die X-Chromosomen aus der DNS-Masse und eilen den Dyaden in der Polwanderung bis zur späten Anaphase voraus (Abb. 20b, c, d, e), dabei lassen sie deutlich die submediane Lage ihrer Kinetochoren erkennen (Abb. 20c). In der späten Anaphase werden sie von den Dyaden eingeholt und liegen meist zentral in der Telophasegruppe (Abb. 20g).

Entsprechend der intraindividuellen Zahlenvariabilität in den Oogonienmitosen (Bauer 1931) treten die Überzähligen in wechselnder Zahl in den Reifeteilungen der Eier eines Geleges auf. Von 52 analysierten Anaphasen I von Eiern dreier Gelege enthielten 17 Eier keine Überzähligen (32,5%), 19 Eier ein Überzähliges (36,5%), 12 Eier 2 (23%), 3 Eier 3 (6%) und 1 Ei 4 Überzählige (2%). Die Lage der Überzähligen in der Metaphase I war nicht eindeutig feststellbar. Sie konnten weder frei zwischen den Tetraden, noch außerhalb der Tetraden in der Spindel gefunden werden. Sie wandern in der Anaphase mit den Geschlechtschromosomen meistens im gleichen Spindelausschnitt (Abb. 20d, e, g) und sind häufig bis zur späten Anaphase durch Chromatinfäden mit dem DNS-Körper verbunden (Abb. 20e), der in der Metaphase I zwischen den Geschlechtschromosomen ausgebildet ist; daher liegt die Vermutung nahe, daß die Überzähligen in der Metaphase I in der DNS-Masse zwischen den Geschlechtschromosomen eingebettet sind. Die Chromatinfäden reißen erst in der späten Anaphase: den Überzähligen können dann noch verschieden lange feulgenpositive Fäden anhängen.

Die DNS-Körper zerfallen in der Anaphase in Granula, die entweder aus der Spindel ausgestoßen werden und bis zur Telophase abgebaut sind oder bei der anaphasischen Spindelstreckung innerhalb der Spindel zu langen Fäden ausgezogen werden. Der DNS-Körper stellt wahrscheinlich extrachromosomales, feulgenpositives Material der Karyosphäre dar und ist nicht mit dem Eliminationschromatin zu verwechseln, wie es für die Meiose einiger Lepidopteren (Seiler 1914, 1923, Frolowa 1935 u. a), bei Trichopteren (Klingstedt 1931) und bei *Pediculopsis* (Cooper 1939) beschrieben ist, das feulgennegativ ist (Bauer 1933, Frolowa 1935 u. a.) und hauptsächlich aus Ribosenukleoproteinen besteht (Ris und Kleinfeld 1952).

Die überzähligen Chromosomen, die sich von den X-Chromosomen durch die subterminale Lage ihrer Kinetochoren (Abb. 20f, untere Gruppe, 20g), ihre stark variierende Größe und schwächere Färbung deutlich unterscheiden (Abb. 20c, f, g), treten in der frühen Anaphase stets als Univalente auf. In Zellen mit 2 und mehr Überzähligen zeigen sie zu diesem Zeitpunkt keine Lagebeziehung zueinander, die auf eine chiasmatische oder nichtchiasmatische Paarung in der Metaphase schließen ließe. Im Gegensatz zu den X-Chromosomen führen die Überzähligen keine geordnete Anaphasebewegung aus; innerhalb einer Spindel

kann ein Teil der Überzähligen einer Anaphasegruppe nachwandern (Abb. 20f), der andere Teil der anderen Anaphasehälfte vorauseilen (Abb. 20f), dabei kann sich die Spindel im Bereich der vorauseilenden Überzähligen stark strecken (Abb. 20d).

Abb. 21a—f. *Tipula caesia*. RT I. a, c, d Metaphase. b_1, b_2, b_3 Bivalente aus a herausgezeichnet. b_4, b_5 Tetraden mit deutlichem Chiasmenloch. e Frühe Anaphase. f Mittlere Anaphase. Schnitt, Feulgen. Vergr. 3000

Die Befunde über die Verteilung der überzähligen Chromosomen in 35 Anaphasen der RT I sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Danach gelangen von den insgesamt 56 Überzähligen der 35 Oocyten 29 in die periphere und 27 in die zentripetale Anaphasehälfte. Die Verteilung erfolgt also zufallsgemäß.

c) Arten ohne Geschlechtschromosomen

Tipula caesia. Die Meiose im Ei dieser Art ist ebenfalls normal chiasmatisch im Gegensatz zum ♂, wo BAUER (1956) eine achiasmatische

Tabelle 4. *Anordnung der Überzähligen in der Anaphase I von Tipula paludosa*

	Anzahl der Überzähligen je Oocyte									
	1		2			3			4	
Lage der Überzähligen in der peripheren (p) oder zentripetalen (z) Anaphasehälfte	p 1	z 1	p 2	p + z 1 1	z 2	p 3	p + z 2 1	p + z 1 2	p + z 1 3
Anzahl der Oocyten	7	12	4	7	1	1	1	1	1

Anzahl der untersuchten Oocyten = 35.

Abb. 22a—c. *Tipula caesia*. a Telophase I. b Metaphase II. c Frühe Anaphase II. Schnitt, Feulgen. Vergr. 3000

Meiose fand. Die 3 großen Tetraden lösen sich nach dem Aufbau der Spindel voneinander und ordnen sich in gleicher Höhe in ihr ein (Abb.13c). Während der Prometaphasestreckung werden die monochiasmatischen Bivalente um das Doppelte, die Bivalente mit 2 Chiasmen auf etwa das $1^1/_2$fache ihrer Ausgangslänge ausgezogen (Abb. 21a, c, d). Unterschiede im Spiralisationsgrad der chiasmaproximalen Abschnitte können eine Ungleichheit der Homologen eines Bivalents vortäuschen (Abb. 21d). Die chiasmafreien Schenkel trennen sich kurz vor der maximalen Streckung, ihre Chromatiden klaffen weit auseinander und sind oft verschieden stark entspiralisiert (Abb. 21d). Die Chiasmenhäufigkeit ist 3—5 je Zelle; die ungleichschenklige Tetrade (Abb. 21 b_3, c, rechts außen) ist nur im langen Schenkel chiasmatisch gepaart.

Nach dem Lösen der Chiasmen entspiralisieren sich die Chromatiden der chiasmafreien Schenkel und die chiasmaproximalen Abschnitte

(Abb. 21e). Die Chromatiden sind in der frühen Anaphase nur im Bereich der Kinetochoren vereinigt (Abb. 21e). Die chiasmadistalen Chromatidenenden der auseinanderweichenden Dyaden sind verdickt und oft durch feine Chromatinfäden verbunden (Abb. 21e), die erst in der späten

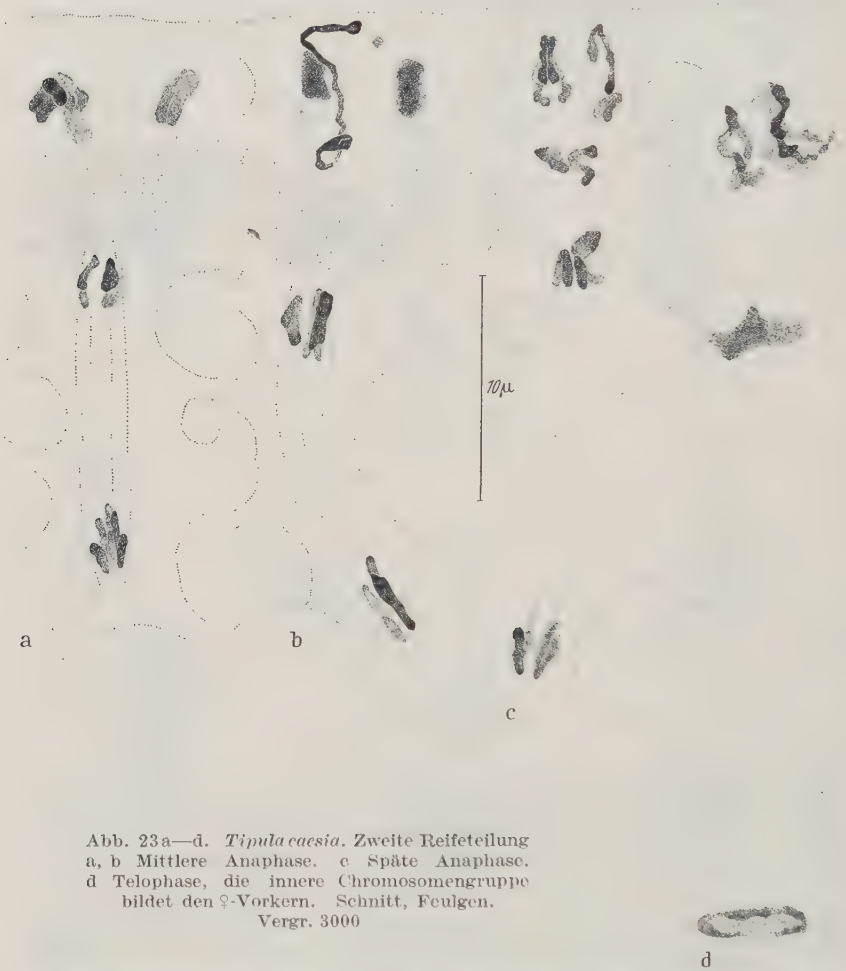

Abb. 23a—d. *Tipula caesia*. Zweite Reifeteilung a, b Mittlere Anaphase. c Späte Anaphase. d Telophase, die innere Chromosomengruppe bildet den ♀-Vorkern. Schnitt, Feulgen. Vergr. 3000

Anaphase durchreißen. Bis zur Telophase werden die Spiralisationsunterschiede ausgeglichen (Abb. 21f, Abb. 22a). Unter weiterer Kontraktion klappen schließlich die Schenkel auseinander.

Nach vollzogener Umordnung zur Metaphase II (Abb. 22b) teilt sich die innere Dyadengruppe normal (Abb. 22c, Abb. 23a, b, c, d). Ihre innere Anaphasegruppe bildet den ♀-Vorkern (Abb. 23d). Die periphere Dyadengruppe macht keine geordnete Teilung durch, da in der RT II

keine Spindel um sie aufgebaut wird. Die Anordnung der peripheren Gruppe ist unregelmäßig (Abb. 22a, b, Abb. 23a); die Dyaden in ihr entspiralisieren sich (Abb. 23b, c, d), und in einer wechselnden Zahl von ihnen lösen sich die Chromatiden voneinander (Abb. 23c, d). Nach Beendigung der RT II verschmelzen die Chromosomen der peripheren Gruppe und bilden einen unregelmäßigen Klumpen.

III. Die Formveränderungen der Spindel während der Reifeteilungen

a) Allgemeines

Die untersuchten Arten zeigen als Grundtypus eine Tonnenspindel, deren Längsachse stets parallel zur Längsachse der Karyosphäre angelegt wird, die ihrerseits schon vor Ausbildung der Spindel senkrecht zum Chorion orientiert ist. Die Ausrichtung der Spindellängsachse durch die Karyosphärenlängsachse wird in einigen Ausnahmefällen besonders deutlich, in denen die Karyosphäre nicht radiär eingeordnet ist und dadurch eine schräge Stellung der Spindel in der RT I bedingt. Der Aufbau der Spindel beginnt 1—2 min nach Ablage des befruchteten Eies; sie wird zunächst in der Breite der Tetraden angelegt, um sich bis zur Metaphase I stark zu strecken und zu verbreitern. In der Metaphase bis Anaphase I tritt eine laterale Verbreiterung der Spindel in der Äquatorialebene auf, die bei einigen Arten während der Anaphasestrekkung ausgeglichen wird. Durch Auflösung der Spindelfasern in der Äquatorialebene entstehen in der Telophase I 2 Spindelhälften, die die Spindeln der RT II ergeben. Bei anderen Arten entsteht durch starke laterale Verbreiterung der Spindel in der Metaphase ein diskusförmiger Spindelmittelkörper, dem in der Telophase die beiden die Chromosomen enthaltenden — polnahen Spindelhälften anliegen. Die Spindelfasern des Spindelmittelkörpers (dem Thelyid der älteren Arbeiten) werden in der Telophase I abgebaut. Danach trennen sich die Spindelhälften vom Spindelmittelkörper und bilden bei einigen Arten direkt die Spindeln der RT II; bei anderen Arten werden sie partiell oder total abgebaut, um bis zur Metaphase II teilweise oder ganz neu zu entstehen. Allen Arten fehlen Polstrahlung und Centren.

Diese Vorgänge laufen im Prinzip gleichartig ab, doch treten artspezifische Modifikationen auf. Die Reihenfolge, in der die einzelnen Arten besprochen werden, stimmt mit der des vorangegangenen Kapitels überein.

b) Die Spindelveränderungen der einzelnen Arten

Bei *Pales crocata* ist die Spindel in der Prometaphase tonnenförmig (Abb. 24a). Nach Verkürzung der Spindel auf ungefähr die Hälfte der Ausgangslänge treten in der Metaphase I in der Äquatorialebene seitliche Ausbuchtungen der Spindel auf (Abb. 24b), die in der Anaphase I stärker

werden (Abb. 24c). Während der Verbreiterung schließen sich die die Spindel begrenzenden Spindelfasern im Bereich der Pole zusammen (Abb. 24d, e), so daß die Spindel in der Anaphase eine geschlossene Linsenform hat (Abb. 24e) und mehr als doppelt so breit wie lang ist. Ihre äußerlichen seitlichen Bereiche sind schwach nach innen gebogen (Abb. 24e). Die Spindelfasern laufen zwischen den Chromosomen parallel zur Spindellängsachse, in den lateralen Ausbuchtungen sind sie mit zu-

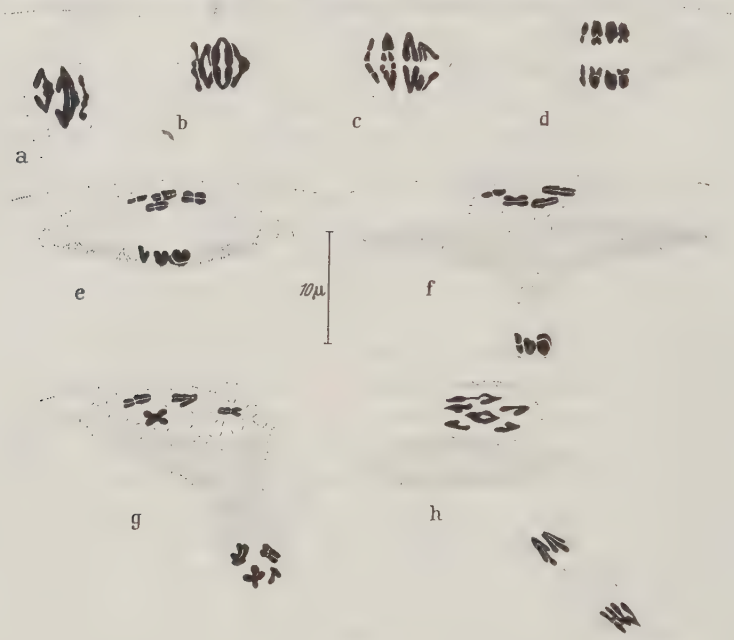

Abb. 24a—h. *Pales crocata*. Halbschematische Darstellung der Formveränderungen der Spindel in den Reifeteilungen. a Prometaphase I. b Metaphase I. c Frühe Anaphase I. d, e Mittlere Anaphase I. f Späte Anaphase I. g Telophase I. h Anaphase II. Schnitt, Feulgen. Vergr. 1500

nehmender Entfernung von der Spindelmitte etwas stärker nach außen gebogen (Abb. 24e).

Nach maximaler Verbreiterung werden zu beiden Seiten der inneren Anaphasegruppe I die Spindelfasern von der Peripherie her abgebaut: die Regionen, in denen die Spindel aufgelöst ist, sind gleichmäßig granuliert (Abb. 24e). Gleichzeitig setzt eine Streckung des zentralen Spindelbereiches ein, die zu einer langen zungenartigen Ausbuchtung nach innen und einer breiteren aber kürzeren Ausbuchtung nach außen führt (Abb. 24f). Nach Beendigung dieser Umformung erfaßt die Auflösung auch den zentralen Spindelbereich (Abb. 24f); dem feingranulierten diskusförmigen Spindelmittelkörper sitzen dann die beiden

Spindelhälften auf (Abb. 24f). Die beiden Spindelhälften lösen sich vom Spindelmittelkörper ab, danach werden in ihnen aus dem fädigen Material der zerfallenen Spindel der RT I die Spindelfasern für die RT II aufgebaut.

Die periphere Spindel der RT II ist kurz und breit (Abb. 16c); die innere Spindel zeigt eine deutliche Anaphasestreckung (Abb. 16c, Abb. 24h). Der Spindelmittelkörper dehnt sich in der Anaphase II weiter seitlich aus und berührt in der Telophase II das Chorion. Er trennt die periphere Spindel vom Ei ab. $^1/_2$ Std nach Auflösung der Spindeln der RT II wird die Begrenzung des Spindelmittelkörpers undeutlich, nach weiteren 30 min ist er vollkommen abgebaut.

Die ausnahmsweise vorkommende schräge Lage der Spindellängsachse in der RT I bedingt eine seitlich schräge Ausbauchung der inneren Spindelhälfte und eine seitliche Verlagerung des peripheren Spindelpols (Abb. 24g). Dieses führt zur Einordnung der peripheren Spindel der RT II parallel zum Chorion und verursacht eine schiefe Lage der inneren Spindel in der RT II (Abb. 24h).

Die bei *Pales pratensis* in der Metaphase I vorhandenen seitlichen Ausbauchungen (Abb. 15a, b) werden durch die Anaphasestreckung der Spindel ausgeglichen (Abb. 15c). Ein Spindelmittelkörper wird nicht ausgebildet.

Bei *Tipula lateralis* ist die Spindel kurz nach Auflösung der Karyosphäre ellipsenförmig (Abb. 17b), bis zur Metaphase hat sie sich stark verkürzt und verbreitert (Abb. 17c, d, f). Der in der Telophase I bei *Tipula lateralis* auftretende Spindelmittelkörper ist kreisrund, in ihm treten radiäre Strahlen auf, die über seine Begrenzung hinaus weit in das umgebende Plasma reichen (Abb. 18a). Aus den beiden Spindelhälften werden direkt die Spindeln der 2. Reifeteilung (Abb. 18b, c, d, e). Der runde Spindelmittelkörper dehnt sich in der RT II seitlich aus und wird durch die Spindeln eingebeult (Abb. 18b, c, d). Reste der von ihm ausgehenden Strahlung sind bis zur späten Anaphase II neben der peripheren Spindel vorhanden (Abb. 18b, c, d).

In einem Fall konnte eine separate Spindel der beiden univalenten Geschlechtschromosomen beobachtet werden (Abb. 17f), die wahrscheinlich durch Abspalten eines peripheren — die Geschlechtschromosomen enthaltenden — Spindelbereiches in der Prometaphase entstanden ist, da der Aufbau einer geordneten Spindel durch 2 nicht verbundene homologe Univalente kaum möglich sein dürfte; denn hier fehlt die Koorientierung der Kinetochoren des Bivalents zu den Centren, die für den Aufbau einer geordneten Spindel wohl notwendig ist.

Bei *Tipula oleracea* hat die Spindel bis zur späten Anaphase Tonnenform (Abb. 19d), dann baucht sie sich in der Äquatorialebene seitlich stark aus (Abb. 19e, f), womit eine starke Streckung der polnahen

Spindelbereiche einhergeht (Abb. 19e). Die innere Spindelhälfte löst sich in der Telophase I vom runden Spindelmittelkörper ab und bildet die innere Spindel der RT II (Abb. 19i), während die periphere Hälfte mit dem Spindelmittelkörper verbunden bleibt (Abb. 19g, h, i). Der innere dem Spindelmittelkörper anliegende Teil weist in der Metaphase II keine Spindelfasern auf und ist mit kurzen ungeordneten fädigen Struk-

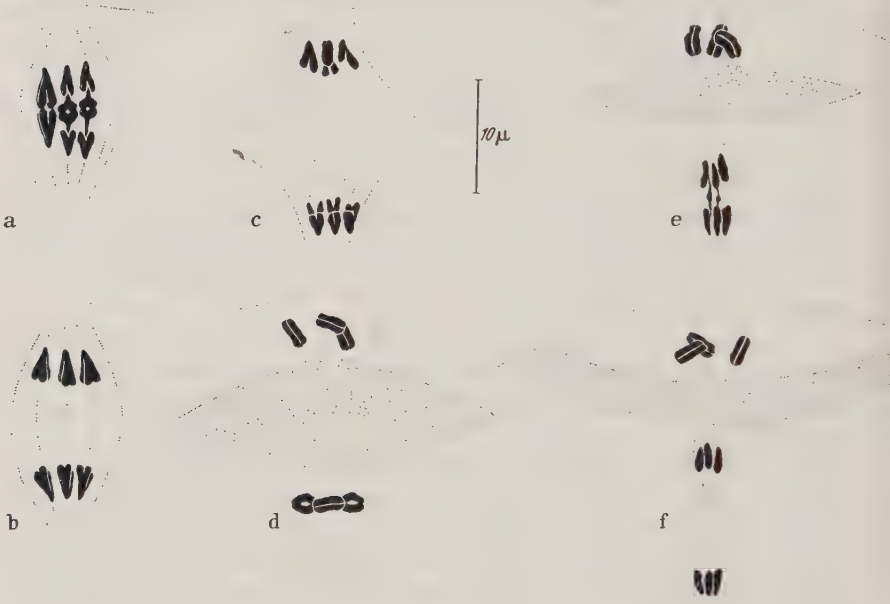

Abb. 25a—f. *Tipula caesia.* Formveränderungen der Spindel in der RT I und II. Halbschematisch. a Metaphase I. b Anaphase I. c Telophase I. d Metaphase II. e Anaphase II. f Telophase II. Schnitt, Feulgen. Vergr. 1500

turen erfüllt (Abb. 19g, h). Die Kinetochoren der Dyaden liegen zu diesem Zeitpunkt am Übergang vom unregelmäßig strukturierten inneren zu dem Faserstruktur aufweisenden äußeren Spindelteil. Nach der Trennung der Chromatiden wandert ein haploider Satz in der äußeren Teilspindel zum Pol, während die Schwesterchromatiden in den inneren Spindelteil gelangen und keine Anaphasebewegung ausführen (Abb. 19g, h). In der Telophase II schreitet der Abbau der Spindelfasern vom inneren Spindelteil zum äußeren Pol fort.

Tipula paludosa hat eine breite Tonnenspindel (Abb. 20a), die sich bis zur Telophase streckt (Abb. 20g) und dann in der alten Äquatorialebene taillenartig einschnürt (Abb. 20g). Nach Auflösung der Spindelfasern in diesem Bereich entstehen 2 Teilspindeln, die die Spindeln der RT II darstellen.

Bei *Tipula caesia* ist die Spindel anfänglich wenig breiter als die Tetraden (Abb. 13c). In der Prometaphase verbreitert sie sich um das 2—3fache und streckt sich auf das $1^1/_2$fache (Abb. 21a, c), um sich in der Metaphase wieder auf die Ausgangslänge zu verkürzen und weiter zu verbreitern (Abb. 21d, Abb. 25a). In der Telophase baucht sie sich seitlich aus (Abb. 25c) und wird nach Umordnung der inneren Dyadengruppe zur Metaphase II in den polnahen Regionen abgebaut. Die beiden Chromosomengruppen liegen danach außerhalb des rhombischen Spindelmittelkörpers (Abb. 25d). In der 2. Reifeteilung unterbleibt die Spindelbildung im Bereich der peripheren Dyadengruppe (Abb. 25e, f). Die periphere Chromosomengruppe wird durch den Spindelmittelkörper vom Ei abgetrennt (Abb. 25f). Die Spindel um die innere Dyadengruppe wird neu aufgebaut.

F. Diskussion der Ergebnisse

I. Die Nukleinkörper

Die Bildung der Nukleinkörper und ihre Beziehung zum Heterochromatin

Extrachromosomale feulgenpositive Körper sind in tierischen und pflanzlichen Zellen verschiedenster Entwicklungsphasen beschrieben worden. Die Herkunft des Materials, das diese Körper aufbaut, ist in den meisten Fällen ungeklärt. Bei dem klassischen Beispiel des Ringkörpers in den Differentialmitosen der Oogenese von *Dytiscus* hat Boveri (1904) zu begründen versucht, daß — entsprechend der Diminution der Chromosomenabschnitte in den Somastammzellen der Ascarinen — Chromosomenteile abgestoßen werden, die sich zu dem Ring vereinigen. Diese Ansicht wird neuerdings auch von Paulson (unveröffentlicht, diskutiert von Swift 1953) vertreten. Der geringe Größenunterschied der Chromosomen der primären und sekundären Oogonien läßt es jedoch als unmöglich erscheinen, daß das gesamte Material des Ringkörpers vorher Bestandteil der Chromosomen gewesen ist (Bauer 1953). Vielmehr kann aus der Beschreibung von Günthert (1910) geschlossen werden, daß sich der Ringkörper aus einer großen Anzahl Chromatingranula zusammensetzt, die in der Prophase von den Chromocentren frei werden. Vermutlich handelt es sich hier um eine Vermehrung von DNS, die unabhängig von der DNS-Synthese für die Chromosomenreduplikation erfolgt, ähnlich den Vorgängen, die für zahlreiche andere Objekte beschrieben sind, wie z.B. in den Kernen der Speicheldrüse von *Helix aspersa* (Leuchtenberger und Schrader 1952). Hier steigt die DNS-Menge während des Sekretionscyclus bis auf den 30fachen Wert der diploiden Zellen an, um dann während der Sekretionsphase wieder auf den diploiden Wert abzusinken. Eine ähnliche Beziehung zwischen der Produktion extrachromosomaler DNS und der Sekretbildung scheint in

den Drüsenzellen von *Drosera rotundifolia* (ROSENBERG 1899, KONOPKA 1930), in den Tapetumzellen von *Trillium erectum* und *Lilium henryi* (SPARROW und HAMMOND 1947) und anderen Pflanzenarten (COOPER 1952) und gelegentlich bei menschlichen Leukocyten (LA COUR 1944) vorzuliegen. Außerdem treten extrachromosomale feulgenpositive Körper in wachsenden Zellen auf; so in den Krötenoocyten, wo sie cyclisch von den heterochromatischen Regionen der Lampenbürstenchromosomen abgestoßen werden (PAINTER und TAYLOR 1942). In anderen Fällen ist die Beziehung zwischen der Produktion extrachromosomaler DNS und Funktion der Zelle nicht so klar ausgeprägt. Das gilt z.B. für die feulgenpositiven Grana in den Furchungsmitosen von *Cyclops strenuus* (STICH 1954), deren Entstehung als eine Begleiterscheinung der Kerntätigkeit während der Differenzierung gedeutet wird. Ähnliche Befunde sind von MOORE (1952) erhoben worden, der während der Differenzierung der Gewebe haploider und diploider *Rana pipiens*-Keime starke Abweichungen von den zu erwartenden DNS-Werten fand.

Obgleich die Befunde von LEUCHTENBERGER und SCHRADER (1952) von SWIFT (1953) nicht bestätigt werden konnten, der Polyploidiereihen in den Kernen der Speicheldrüse von *Helix aspersa* feststellte, sprechen die in zahlreichen tierischen und pflanzlichen Zellen verschiedenster Entwicklungsphasen auftretenden extrachromosomalen feulgenpositiven Körper deutlich für eine DNS-Synthese, die nicht am Aufbau der Chromosomen beteiligt ist, sondern mit der Kernfunktion korreliert ist.

Ein eindeutiges Beispiel hierfür sind die NK der Tipuliden, für die in dieser Arbeit gezeigt werden konnte, daß sie nicht Chromosomenteile, sondern Stoffprodukte des Kernes darstellen. Für ihre Bildung an den heterochromatischen Geschlechtschromosomen oder an den heterochromatischen Regionen der Autosomen in der Interphase vor jeder Differentialmitose konnten einige Gesetzmäßigkeiten aufgedeckt werden. So besteht eine deutliche Beziehung zwischen der Größe der in den einzelnen Arten ausgebildeten NK und der Länge der heterochromatischen Abschnitte. Dieser Zusammenhang tritt besonders klar bei den morphologisch gleichen NK der 3 Pales-Arten hervor, die, entsprechend der übereinstimmenden Länge ihrer heterochromatischen Geschlechtschromosomen, gleich groß sind. Weiterhin sind morphologisch vergleichbare NK bei Arten mit längeren heterochromatischen Bildungsbereichen größer als bei Arten mit kürzeren. Aber auch innerhalb der gleichen Art ist diese Korrelation während des 2.—4. Teilungsschrittes der sekundären Oogonien zu verfolgen. Einer schrittweisen Abnahme der Chromosomengröße von Teilungsschritt zu Teilungsschritt geht eine bei verschiedenen Arten verschieden starke Abnahme der NK-Größe parallel.

Diese Korrelation ist aber nur bei Tieren gegeben, die sich unter optimalen Lebensbedingungen entwickeln und damit zeitlich normale

Teilungsabläufe durchmachen. Bei Tieren in schlechtem physiologischem Zustand (Hungertiere) werden die Teilungen stark verzögert. Gleichzeitig damit sind die NK bedeutend größer als in den entsprechenden Teilungsschritten des zeitlich normalen Teilungsablaufs; auch verlieren sie dabei meistens ihre artspezifische Form. Hieraus kann geschlossen werden, daß die DNS-Synthese für den NK-Aufbau getrennt von der Reduplikation der Chromosomen abläuft und daß die Menge der produzierten NK-DNS von der Dauer des Interphasestadiums abhängt. Die konstante Größe der NK in vergleichbaren Teilungsschritten verschiedener Eianlagen des gleichen Individuums würde dementsprechend den gleichen zeitlichen Ablauf voraussetzen.

Für den Produktionscyclus der feulgenpositiven Körper der Tipuliden kann vielleicht ein Zusammenhang mit plasmatischen Syntheseprozessen angenommen werden, die vor jeder differentiellen Zellteilung, die zur Abgliederung einer Nährzelle führt, in den Oocytenstammzellen ablaufen müssen. Im übrigen stellt die NK-Bildung ein augenfälliges Beispiel für die unterschiedliche Funktion homologer Chromosomenabschnitte (Schwesterchromatiden) in verschieden differenzierten Zellen dar und kann mit den von Beermann (1952a, 1952b) und Mechelke (1953) beschriebenen Strukturmodifikationen in homologen Abschnitten der Riesenchromosomen in verschiedenen Geweben bzw. verschieden differenzierten Teilen eines Organs, verglichen werden, die auf einer differentiellen Abstimmung der Genaktivität in Zellen verschiedener Funktion beruhen. Die unterschiedliche Funktion äußert sich hier in dem auf die Oocytenstammzellen beschränkten NK-Aufbau; an den homologen Abschnitten in den von den Oocytenstammzellen abgetrennten Nährzellen tritt ein Nukleolus auf. Für die diploiden Kerne dieser beiden Zelltypen dürfen somit ungleiche DNS-Mengen mit Bestimmtheit angenommen werden.

Die Untersuchungen über den chemischen Aufbau der extrachromosomalen feulgenpositiven Körper haben erst begonnen. Ihre positive Feulgen-Reaktion und Absorption bei 2537 und 2650 Å zeigen das Vorhandensein von DNS an; die Absorption bei 2804 Å beweist, daß ebenfalls Proteine in ihnen enthalten sind (Sparrow und Hammond 1947). Für den Ringkörper von *Dytiscus* beschreibt Urbani (1950), daß sie sich aus DNS und RNS zusammensetzen. Der Anteil der beiden Nukleinsäuren ändert sich im Laufe der differentiellen Zellteilungen. Zunächst überwiegt die DNS, später die RNS.

Im Gegensatz zu den strukturlosen gleichartigen feulgenpositiven Körpern in den Zellen der verschiedensten Entwicklungsphasen, die vermutlich aus Nukleoproteiden einfachster Art bestehen, kann aus dem differenzierten Aufbau der NK der Tipuliden eine komplexere chemische

Zusammensetzung vermutet werden. Die artspezifisch verschiedene Form und Struktur der NK setzt wohl das Vorhandensein höhermolekularer Nukleoproteide als Bauelemente der NK voraus.

Die Beziehung der Nukleinkörper zum Differenzierungsvorgang

Beziehungen zu den Differenzierungsvorgängen, die in der Oogenese von *Dytiscus* ablaufen, läßt das Verhalten der Ringkörper in den differentiellen Zellteilungen erkennen (GÜNTHERT 1910). Das extrachromosomale feulgenpositive Material, das in der Prophase des 1. Teilungsschrittes der sekundären Oogonien im Kern auftritt, umschließt in der Metaphase ringartig die Spindel und wandert in der qualitativ und quantitativ ungleichen Plasmateilung in der Anaphase stets in die größere Schwesterzelle. Auch in der 2., 3. und 4. differentiellen Zellteilung ordnet sich das feulgenpositive Material ringartig um die Spindel an und gelangt nach dem Abtrennen einer kleinen Nährzelle in jeder Anaphase wieder in die große Zelle zurück. Nach Ablauf der 4 differentiellen Zellteilungen liegen dann 15 kleine Nährzellen neben einer großen Zelle vor, die die definitive Oocyte darstellt und den Ringkörper enthält.

Bei diesen Differenzierungsvorgängen dürfte die Entscheidung darüber, welche Zelle zur Oocyte wird, wohl kaum durch die Verteilung des Ringkörpers gefällt werden. Die Differenzierung wird vielmehr sicher durch die plasmatische Polarität bedingt, die sich in der ungeteilten sekundären Oogonie zu erkennen gibt. Die Differentialmitosen führen eine Trennung ungleicher Plasmen herbei, und das Verhalten des Ringkörpers ist als Indikator für diesen Vorgang anzusehen.

Bei den Tipuliden sind die Verhältnisse in den Differentialmitosen der sekundären Oogonien zwar nicht so übersichtlich, lassen sich aber mit den Vorgängen bei *Dytiscus* vergleichen. Wie bereits oben beschrieben wurde, treten in den meisten Arten die NK erst im 2. Teilungsschritt der sekundären Oogonien auf und erscheinen auch im 3. und 4. Teilungsschritt immer in 2 benachbarten Zellen. Aus der parallelen Anordnung der Spindellängsachsen und der gleichgerichteten Anaphasebewegung der NK in den beiden Zellen im 2., 3. und 4. Teilungsschritt kann auf eine gleichartige plasmatische Differenzierung in diesen beiden Zellen geschlossen werden. Es kann angenommen werden, daß die NK in 2 Zellinien durch den 3. und 4. Teilungsschritt „weitergegeben" werden, d.h. in den beiden Kernen in der Prophase wieder aufgebaut werden, in denen die NK der vorhergegangenen Teilungsschrittes abgebaut wurden.

Wie bei *Dytiscus* scheint vor jeder differentiellen Zellteilung in diesen beiden Zellen eine gleichgerichtete plasmatische Differenzierung vorzuliegen. Jede Differentialmitose stellt also auch hier eine Trennung qualitativ verschiedener Plasmen dar, wodurch in jedem Teilungsschritt von den beiden Oocyten je eine Nährzelle abgegliedert wird und wobei

die NK in der Anaphase jeder differentiellen Teilung wieder in das Oocytenplasma zurückwandern.

Pales crocata weicht von diesem Modus insofern ab, als die NK nicht nur auf 2 Zellinien beschränkt sind, sondern in der Prophase des 3. und 4. Teilungsschrittes in 1 oder 2 weiteren Zellen NK neu auftreten können. Dementsprechend können auch im 16zelligen Einährzellenverband bis zu 4 Zellen ein reguläres Pachytän aufweisen und somit als Oocyten angesehen werden. Das Neuauftreten von NK kann entweder durch eine gleichmäßige Verteilung der beiden Plasmasorten in der vorausgegangenen Teilung bedingt sein oder als ein Auftreten plasmatischer Differenzierung in weiteren Zellen gedeutet werden. Für letztere Interpretation würde sprechen, daß bei *P. crocata* niemals eine Zerteilung der NK und Wanderung der Teilstücke der NK zu beiden Polen im 2. und 3. Teilungsschritt beobachtet wurde, die bei einer gleichmäßigen Verteilung der Plasmen in der Anaphase zu erwarten wäre.

Anaphasische Teilung der NK kommt tatsächlich bei *T. oleracea* vor, und zwar in den Fällen, in denen schon in der Interphase vor dem 1. Teilungsschritt NK ausnahmsweise gebildet wurden. Vermutlich ist in diesen Fällen die plasmatische Differenzierung auch schon in der Prophase des 1. Teilungsschrittes vorhanden, und die Plasmateilung führt in der Anaphase eine gleichmäßige Verteilung der Plasmen herbei. Die gleichmäßige Verteilung kann vielleicht durch eine Einordnung der Spindellängsachse senkrecht zur Richtung der plasmatischen Polarität bedingt sein.

Im Fall von *Dytiscus* ist mit der Differenzierung einer bestimmten Zelle zur Oocyte nicht nur die Ausbildung des Pachytäns, sondern auch in jedem Fall die Weiterentwicklung zur definitiven Oocyte festgelegt. Bei den hier besprochenen Tipuliden dagegen können — artspezifisch verschieden — 1—4 Zellen des Einährzellverbandes die Meiose bis zum Pachytän durchlaufen. Welche von den 1—4 Oocyten zur definitiven wird, kann aus dem cytologischen Bild oder der relativen Lage nicht vorausgesagt werden. Der einfachste Fall würde dann bei *Tipula paludosa* vorliegen (Bauer 1931), wo alle 16 Zellen einer Eianlage ein Pachytän ausbilden, wo also in den Teilungen der sekundären Oogonien keine Differenzierung in Oocyten und Nährzellen erfolgt.

II. Die Meiose

a) Die Chromosomen

Das Verhalten der Chromosomen in der Oogenese der Tipuliden weicht prinzipiell nicht von ihrem Verhalten in der Spermatogenese und damit vom Normalmodus der Meiose ab. Ein Vergleich der Häufigkeit der Chiasmen in der Oogenese mit der in der Spermatogenese der unter-

suchten Arten läßt sich, wie schon oben betont wurde, nicht durchführen, weil die Chiasmenhäufigkeit in der Oogenese nicht eindeutig zu bestimmen ist. Doch kann, von dem Sonderfall *Tipula caesia* abgesehen, der Unterschied zwischen den Geschlechtern nicht allzu groß sein.

Die Meiose in den Oocyten von *Tipula caesia*, deren Chromosomen in den Spermatocyten keine Chiasmen bilden (BAUER 1956), unterscheidet sich nicht von der Meiose der übrigen Arten. Es liegt also eine Parallele zu anderen bekannten Fällen mit Ausfall des Faktorenaustausches in einem Geschlecht vor. Cytologische Untersuchungen der Reifeteilungen der Oocyten von Dipteren-Arten mit achiasmatischer Meiose im ♂ liegen für *Drosophila melanogaster* (HÜTTNER 1924, GUYÉNOT und NAVILLE 1929, 1933) und für *Drosophila subobscura* (FAHMY 1952) vor, ferner für *Calliphora erythrocephala* (HENKING 1888, STRASBURGER 1933) und *C. vomitoria* (HENKING 1892). Wegen der geringen Größe der Chromosomen bzw. der ungenügenden Technik sind diese Angaben allerdings von geringem Wert. Es scheint, daß in den Eiern von *Drosophila melanogaster* eine normale Meiose mit chiasmatisch gepaarten Bivalenten abläuft, während bei *Drosophila subobscura* die Bivalente keine Chiasmen erkennen lassen, obgleich Faktorenaustausch im ♀ genetisch nachgewiesen ist. Die für *Calliphora* vorliegenden Abbildungen lassen überhaupt keine in diesem Zusammenhang interessierenden Einzelheiten erkennen.

Bemerkenswert ist die große Mannigfaltigkeit im Ablauf der beiden Reifeteilungen, insbesondere das verschiedene Verhalten der Richtungskerne bei den nahe verwandten Arten. In dieser Mannigfaltigkeit kommt die große Variationsmöglichkeit im Ablauf der meiotischen Teilungen zum Ausdruck, welche in der Spermatogenese nicht in Erscheinung treten kann, weil dort normalerweise alle 4 Gonen zu Gameten umgewandelt werden.

Im Gegensatz zu den Autosomen kann für die total heterochromatischen Geschlechtschromosomen aller untersuchten Arten völliges Fehlen von Chiasmen in der Oogenese angenommen werden. Für die Spermatogenese ist der gleiche Sachverhalt bereits von BAUER (1931, 1956) und WOLF (1941) festgestellt worden. Das Fehlen von Faktorenaustausch bei den Geschlechtschromosomen würde genetisch praktisch ohne Bedeutung sein, da angenommen werden kann, daß die Geschlechtschromosomen nur noch die Geschlechtsbestimmungsfaktoren enthalten. Mechanisch wäre die Bildung von Chiasmen bei den im Pachytän total heterochromatischen Geschlechtschromosomen auch schwer zu verstehen. Darüber hinaus sprechen folgende Beobachtungen gegen eine chiasmatische Paarung der X-Chromosomen in der Oogenese:

Bei *Tipula lateralis*, *T. oleracea* und *T. paludosa* treten sie stets ungepaart aus der Karyosphäre aus und bilden in der RT I Univalente.

Obgleich es sich nicht mit Sicherheit ausschließen läßt, scheinen sie auch innerhalb der Karyosphäre nicht chiasmatisch vereint zu sein, da niemals chromosomale Verbindungsfäden zwischen den Univalenten beobachtet wurden und die Enden der Univalenten auch niemals verdickt und aufgespalten sind. Vielmehr liegen die Chromatiden der aus der Karyosphäre austretenden Univalenten stets eng zusammen, die Schenkel sind gleichmäßig spiralisiert und haben meist über ihre ganze Länge Kontakt.

Dagegen treten die Geschlechtschromosomen von *Pales crocata* und *P. pratensis* in den meisten Fällen als scheinbar normale Bivalente aus der Karyosphäre aus. Doch kann diese Paarung nicht auf Chiasmenbildung beruhen, da die Geschlechtschromosomen ausnahmsweise auch in stark spiralisiertem Zustand noch zu einem Bivalent zusammentreten. Während unmittelbar nach Auflösung der Karyosphäre gelegentlich univalente Geschlechtschromosomen vorzufinden sind, treten solche in der späten Prometaphase und Metaphase I niemals mehr auf. Außerdem sprechen die im speziellen Teil ausführlich beschriebenen, in ungefähr 40 bzw. 60% beobachteten atypischen Paarungskonfigurationen der Geschlechtschromosomen bei *Pales crocata* und *P. pratensis* gegen eine chiasmatische Paarung. Weitere Argumente sind das Fehlen von Chiasmenlöchern und das Ausbleiben der Chromatidenspreizung in den distal des Paarungsbereiches gelegenen freien Chromosomenenden. Demnach liegt bei den beiden Arten eine reine Kontaktpaarung vor, die auf bestimmte terminale Teilabschnitte der langen Schenkel beschränkt ist, wie es z.B. für alle Chromosomenpaare in der Spermatogenese von *Olfersia bisulcata* beschrieben worden ist (Cooper 1944).

b) Die Spindel

Bei den Tipuliden ist, wie es im speziellen Teil aufgezeigt wurde, eine erhebliche Mannigfaltigkeit im Bau und Verhalten der Spindel vorhanden. Das Nebeneinander-Vorkommen von Arten mit einfacher Tonnenspindel und Arten mit Spindelmittelkörper innerhalb verschiedener kleinerer Verwandtschaftsgruppen spricht gegen eine monophyletische Entwicklung der Spindelform in der Familie. So ist innerhalb der Gattung Pales z.B. bei *P. crocata* ein Spindelmittelkörper ausgebildet, während er bei *P. pratensis* fehlt. In der oleracea-Gruppe tritt ein Spindelmittelkörper bei *Tipula oleracea* auf, ist aber bei *T. paludosa* nicht vorhanden. Neben den beiden Extremen sind für andere Arten Zwischenformen charakteristisch *(Pales pratensis)*. Gegen eine monophyletische Entwicklung der einen Spindelform aus der anderen spricht weiterhin, daß die beiden Spindeltypen in gleicher Weise nebeneinander in mehreren anderen Insektenordnungen auftreten. In der Tabelle 5 sind einige Arten mit Spindelmittelkörper aufgeführt, für einige von ihnen ist ein solcher auch in der RT II beschrieben worden.

Tabelle 5. *Vorkommen von Spindelmittelkörpern bei Insekten*

Ordnung	Species	RT I	RT II	Literatur
Diptera	*Calliphora erythrocephala* MEIG.	+		HENKING 1888, STRASBURGER 1933
	Musca vomitoria L.	+		HENKING 1892
Lepidoptera	*Bombyx mori* L.	+		HENKING 1892
	Leucoma salicis L.	+		HENKING 1892
	Pieris brassicae L.	+		HENKING 1890
Coleoptera	*Agelastica alni* L.	+	+	HENKING 1892
	Tenebrio molitor L.	+		HENKING 1892
	Adimonia tanaceti L.	+		HENKING 1892
	Gastroides polygoni L.	+		HENKING 1892
	Lampyris splendidula L.	+	+	HENKING 1892
	Donacia sericea L.	+		HENKING 1892
Hymenoptera	*Lasius niger* L.	+		HENKING 1892
Heteroptera	*Pyrrhocoris apterus* L.	+	+	HENKING 1892

Der Zeitpunkt der Ausbildung, die Feinstruktur, die Form und Größe des Spindelmittelkörpers sind auch hier von Art zu Art verschieden. Andererseits treten charakteristische Modifikationen des Spindelmittelkörpers in ganz verschiedenen Verwandtschaftsgruppen auf. So z.B. die Radiärstrahlung bei dem Coleopter *Agelastica alni* (HENKING 1892) und dem Dipter *Tipula lateralis* (Abb. 18a).

Genetische Untersuchungen an Arten mit einer derartig differenzierten Spindelform sowie Bastarde von Arten mit und ohne Spindelmittelkörper lassen vielleicht einmal Einblick in die genetische Bedingtheit der Art der Spindelbildung im Ei erwarten.

Zusammenfassung

1. Es wird die Oogenese von 10 Arten der Familie Tipulidae (Nematocera, Diptera) beschrieben. Von *Pales crocata*, *Tipula oleracea*, *T. caesia* und *T. lateralis* wurden die Oogonienteilungen und Reifeteilungen im Ei; von *P. scurra*, *P. quadristriata*, *T. pruinosa* und *T. marginata* die Oogonienteilungen; von *P. pratensis* und *T. paludosa* die RT I im Ei untersucht.

2. Der Chromosomenbestand von *Tipula caesia* und *T. pruinosa* ist $n = 3$; der der anderen beschriebenen Arten $n = 3 + X(Y)$. Die Autosomen sind bei allen Species submediokinetisch: die Geschlechtschromosomen subtelokinetisch, bei *T. lateralis* submediokinetisch.

3. Das Verhalten der Autosomen in den Reifeteilungen aller Arten (auch von *T. caesia* mit achiasmatischer ♂-Meiose) weicht vom Normalschema der Meiose nicht ab. Sie sind bei allen Arten chiasmatisch gepaart. Die Zahl der Chiasmen je Bivalent ist 1—2.

4. Die Geschlechtschromosomen zeigen bei allen Arten ein abweichendes Verhalten. Sie sind bei *P. crocata* und *P. pratensis* in kurzen

subterminalen Paarungssegmenten der langen Schenkel achiasmatisch vereinigt; bei *Tipula lateralis*, *T. oleracea* und *T. paludosa* in der RT I stets als Univalente vorhanden. Da die Geschlechtschromosomen dieser 5 Arten auch in der Spermatogenese stets ungepaart vorliegen, fehlt diesen Arten Faktorenaustausch der Geschlechtschromosomen in beiden Geschlechtern.

5. Die bei *Tipula paludosa* auftretenden Überzähligen werden in der Anaphase I zufallsgemäß verteilt.

6. Die beiden Reifeteilungen im Ei folgen direkt aufeinander, ein Interkinese-Ruhekernstadium wird nicht eingeschaltet. Die periphere Dyadengruppe teilt sich bei einigen Arten normal, bei anderen Arten unterbleibt ihre Teilung in der RT II.

7. Die Spindel ist bis zur Metaphase I bei allen Arten tonnenförmig. Nach anaphasischer Verlängerung lösen sich die Spindelfasern in der Metaphaseebene auf. Die Halbspindeln stellen die Spindeln der RT II dar. Bei einigen Arten entsteht durch Verbreiterung der Spindel in der Anaphase I ein rhombischer Spindelmittelkörper. Die Spindeln der RT II werden hier direkt von den Spindelhälften der RT I gebildet, bzw. partiell oder ganz neugebildet.

8. In den Teilungen der sekundären Oogonien treten vom 2. Teilungsschritt an feulgenpositive, extrachromosomale Körper (Nukleinkörper, NK) auf. Die Teilungen sind Differentialmitosen. Im 3. und 4. Teilungsschritt treten die NK wieder in den Zellen auf, in die sie in der vorangegangenen Telophase einbezogen wurden.

9. Trotz des regelmäßigen Abbaus der NK in der Interphase, der sich mit dem Neuaufbau der NK zeitlich nicht überschneidet, ist die Kontinuität der NK-Zellen aus ihrer Lage abzuleiten.

10. Diese Zellen, gewöhnlich 2, bei einer Art 1—4, erweisen sich nach der letzten Differentialmitose durch Bildung eines Pachytäns als Oocyten. Nur eine von ihnen wird zur definitiven Oocyte; die andere oder anderen werden zu Nährzellen.

11. Anzahl und Form der NK sind von Art zu Art charakteristisch verschieden. Die NK werden am Heterochromatin, entweder den Geschlechtschromosomen oder den heterochromatischen Bereichen der Autosomen, aufgebaut.

12. Es besteht eine Korrelation zwischen der Länge der heterochromatischen Bildungsbereiche und der Größe der NK. Ferner ist die NK-Größe von der Dauer des Interphasestadiums abhängig.

13. Aus dem Auftreten der NK muß auf eine von der Chromosomenreduplikation unabhängige DNS-Synthese geschlossen werden, die zugleich Ausdruck einer verschiedenen Funktion homologer Chromosomen (Schwesterchromatiden) in plasmatisch differenten Zellen ist.

Literatur

BAUER, H.: Die Chromosomen von *Tipula paludosa* MEIG. in Eibildung und Spermatogenese. Z. Zellforsch. **14**, 138—193 (1931). — Die Histologie des Ovars von *Tipula paludosa* MEIG. Z. Zool. **143**, 53—76 (1932). — Die FEULGENsche Nuklealfärbung in ihrer Anwendung auf cytologische Untersuchungen. Z. Zellforsch. **15**, 225—247 (1932). — Die wachsenden Oocytenkerne einiger Insekten in ihrem Verhalten zur Nuklealfärbung. Z. Zellforsch. **18**, 254—298 (1933). — Die Chromosomen im Soma der Metazoen. (Referat.) Verh. der Dtsch. Zool. Ges. Freiburg 1952. Zool. Anz. Suppl. **1953**, 252—268. — Die Spermatocytenteilungen der Tipuliden. I. Vergleichende Übersicht des Chromosomenverhaltens. Chromosoma **7** (1956, im Druck). — BAYREUTHER, K.: Extrachromosomale feulgenpositive Körper (Nukleinkörper) in der Oogenese der Tipuliden. Naturwiss. **39**, 71 (1952). — BEERMANN, W.: Chromosomenstruktur und Zelldifferenzierung in der Speicheldrüse von *Trichocladius vitripennis*. Z. Naturforsch. **7b**, 237—242 (1952a). — Chromomerenkonstanz und spezifische Modifikationen der Chromosomenstruktur in der Entwicklung und Organdifferenzierung von *Chironomus tentans*. Chromosoma **5**, 139—198 (1952b). — BOVERI, TH.: Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns, S. 1—130. Jena: Gustav Fischer 1904. — COOPER, D. C.: The transfer of desoxyribose nucleic acid from the tapetum to the microsporocyste at the onset of meiosis. Amer. Naturalist **86**, 219—229 (1952). — COOPER, K. W.: The nuclear cytology of the grass mite, *Pediculopsis graminum* (REUT.) with special reference to karyomerokinesis. Chromosoma **1**, 51—103 (1939). — Analysis of meiotic pairing in *Olfersia* and consideration of the reciprocal chiasmata hypothesis of sex chromosome conjunction in male *Drosophila*. Genetics **29**, 537—568 (1944). — FAHMY, O. G.: The cytology and genetics of *Drosophila subobscura*. VI. Maturation, fertilization and cleavage in normal eggs and in the presence of the cross-over suppressor gene. J. Genet. **50**, 486—506 (1952). — FROLOWA, S. L.: Cytologie der künstlichen Parthenogenese bei *Bombyx mori* L. Biol. Žurn. **4**, 275—308 (1935). — GÜNTHERT, TH.: Die Eibildung der Dytisciden. Zool. Jb., Abt. Anat. u. Ontog. **30**, 1—72 (1910). — GUYÉNOT, E., et A. NAVILLE: Les chromosomes et la réduction chromatique chez *Drosophila melanogaster*. Cellule **39**, 27—82 (1929). — Les bases cytologiques de la théorie du "crossing-over". Les premières phases de l'ovogénèse de *Drosophila melanogaster*. Cellule **42**, 211—230 (1933). — HENKING, H.: Die ersten Entwicklungsvorgänge im Fliegenei und freie Kernbildung. Z. Zool. **46**, 289—336 (1888). — Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. Z. Zool. **49**, 503—564 (1890). — Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. III. Spezielles und Allgemeines. Z. Zool. **54**, 1—275 (1892). — HUETTNER, A.: Maturation and fertilization in *Drosophila melanogaster*. J. Morph. a. Physiol. **39**, 249—259 (1924). — KLINGSTEDT, H.: Digametie beim Weibchen der Trichoptere *Limnophilus decipiens* KOL. Acta zool. fenn. **10**, 1—69 (1931). — KONOPKA, K.: Die Rolle des Kerns bei Verdauung, Sekretion und Reizbewegung der *Drosera rotundifolia*. Schr. Königsberg. gelehrte Ges., Naturwiss. Kl. **7**, 13—112 (1930). — LA COUR, L. F.: Mitosis and cell differentiation in the blood. Proc. Roy. Soc. Edinburgh, Sect. B **62**, 73—84 (1944). — LEUCHTENBERGER, C., and F. SCHRADER: Variation in the amounts of desoxyribose nucleic acid (DNA) in cells of the same tissue and its correlation with secretory function. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **38**, 99—105 (1952). — MANNHEIMS, B.: Die Fliegen der palaearktischen Region. 15. *Tipulidae*. Liefg. 167, 170. Stuttgart: 1951, 1952. — MECHELKE, F.: Reversible Strukturmodifikationen der Speicheldrüsenchromosomen von *Acricotopus lucidus*. Chromosoma **5**, 511—543 (1953). — MOORE, B. C.: Desoxyribose nucleic acid in embryonic diploid and haploid

tissues. Chromosoma **4**, 563—576 (1952). — PAINTER, T. S., and A. N. TAYLOR: Nucleic acid storage in the toad's egg. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **28**, 311—317 (1942). — RIS, H., and R. KLEINFELD: Cytochemical studies on the chromatin elimination in *Solenobia* (*Lepidoptera*). Chromosoma **5**, 363—371 (1952). — ROSENBERG, O.: Physiologisch-cytologische Untersuchungen über *Drosera rotundifolia*. Diss. Bonn 1899. — SEILER, J.: Das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Lepidopteren. Arch. Zellforsch. **13**, 159—269 (1914). — Geschlechtschromosomenuntersuchungen bei Psychiden. IV. Z. Vererbungslehre **31**, 1—99 (1923). — SLIFER, E. H.: Removing the shell from living grass-hopper eggs. Science **102**, 282 (1945). — SPARROW, A. H., and M. R. HAMMOND: Cytological evidence for the transfer of desoxyribose nucleic acid from nucleus to cytoplasm in certain plant cells. Amer. J. Bot. **34**, 439—445 (1947). — STICH, H.: Stoffe und Strömungen in der Spindel von *Cyclops strenuus*. Ein Beitrag zur Mechanik der Mitose. Chromosoma **6**, 199—236 (1954). — STRASBURGER, E. H.: Über den Formwechsel des Chromatins in der Eientwicklung der Fliege *Calliphora erythrocephala* MEIGEN. Z. Zellforsch. **17**, 83—117 (1933). — SWIFT, H.: Quantitative aspects of nuclear nucleoproteins. Internat. Rev. of Cytol. **2**, 78—126 (1953). — URBANI, E.: La massa di Giardina dell'oocite di *Dytiscus marginalis* L. Riv. Biol. **42**, 413—442 (1950). — WOLF, E.: Die Chromosomen in der Spermatogenese einiger Nematoceren. Chromosoma **2**, 192—246 (1941).

Dr. KLAUS BAYREUTHER, Wilhelmshaven,
Max-Planck-Institut für Meeresbiologie

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg

Lebenslauf.

Am 18. Mai 1929 wurde ich, Klaus Otto Ernst Walter Bayreuther, als Sohn des Studienrates Dr. Walter Bayreuther und seiner Ehefrau Frieda, geb. Brock, in Marienwerder, Westpreußen, geboren. Von 1935-1939 besuchte ich die Volksschule, von 1939-1945 die Oberschule für Jungen in Marienwerder, von 1945-1947 die Oberschule in Hameln, Weser, von 1947-1948 die Oberschule in Leer, Ostfriesland, an der ich am 27. Februar 1948 das Reifezeugnis erhielt.

Vom Sommersemester 1948 an habe ich sieben Semester Naturwissenschaften und teilweise Medizin an der Universität Würzburg studiert. Dabei habe ich Übungen und Vorlesungen bei den Herren Professoren und Dozenten Aschoff, Burgeff, Fischer, Gerling, Gösswald, Kraus, Kuhlenkampff, Penners, Rothschuh, Volk, Wohlfahrt, Wurm und Zeidler belegt. Die vorliegende Dissertation entstand anschließend im Max-Planck-Institut für Meeresbiologie in Wilhelmshaven unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. H. Bauer. Nach Abschluß der Arbeit war ich im Sommersemester 1954 und dem Wintersemester 1954-1955 nochmals an der Universität Würzburg immatrikuliert und habe Vorlesungen und Übungen bei den Herren Professoren Autrum, Martius und Wöhlisch besucht.